

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d'évolution

----

Les incertitudes sur la réalité de la présence de la souche d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) dans le cheptel des petits ruminants ont conduit l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a émettre depuis sa création plusieurs avis sur les risques qui pourraient être liés au passage de l'agent infectieux à l'origine de l'ESB chez les petits ruminants. Ces avis ont été émis soit à l'initiative de l'Agence dans le cadre de son programme de travail, soit en réponse à des saisines des ministères de l'agriculture, de la santé et de la consommation, notamment sur des projets de textes réglementaires.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a ainsi émis des avis concernant la liste des matériels à risque spécifié chez les ovins et chez les caprins, l'évolution de la police sanitaire dans les troupeaux où étaient détectés des cas d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), les principes d'une politique de sélection génétique d'animaux résistants à la tremblante.

Dans ses différents avis, l'AFSSA a indiqué que si la souche d'ESB n'avait jamais encore été détectée dans les élevages de petits ruminants, il existait des arguments, directs ou indirects, pour admettre la plausibilité de la réalité de la présence de l'ESB dans les cheptels ovins et les caprins, et pour tenir compte de cette hypothèse dans l'évaluation et la maîtrise du risque, alors même que sa réalité ne serait pas démontrée.

Des déclarations des autorités sanitaires britanniques au cours de l'été 2001 ont pu laisser penser qu'au Royaume-Uni, pays dans lequel l'épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine a été la plus marquée, des travaux auraient permis de détecter la présence de l'agent de l'ESB dans des cervelles ovines provenant d'élevages. Finalement, ces résultats ont été invalidés en octobre 2001.

Dans ce contexte d'incertitude, l'AFSSA a estimé nécessaire de procéder à une analyse d'ensemble des enjeux sanitaires liés à la présence des ESST chez les petits ruminants. Cette démarche a été formalisée à la fin du mois de septembre 2001. Peu après l'annonce que les résultats britanniques n'apporteraient à court terme aucun élément nouveau, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie le 2 novembre 2001 par les ministres de l'agriculture, de la santé et de la consommation d'une saisine qui identifie plusieurs questions dans les termes suivants :

- « *La situation comparée de la France et du Royaume-Uni au regard du niveau d'exposition des cheptels ovin et caprin à l'ESB et à la tremblante et du niveau d'infection des cheptels ovin et caprin en matière d'ESST au cours des 10 dernières années ;*

- *La méthodologie employée (analyse critique) dans l'étude britannique relative à la recherche de la présence du prion ESB chez des ovins prélevés au début des années 1990 ;*

- *Les résultats disponibles concernant la recherche de la présence du prion ESB chez les ovins abattus récemment au Royaume-Uni ou dans d'autres pays ;*

- *Les résultats d'étape des recherches entreprises par l'Afssa depuis la création du réseau tremblante en 1997 et concernant l'identification spécifique d'éventuels cas d'ESB ovine ;*

- *L'évaluation, si possible quantitative, du risque avéré ou théorique pour le consommateur lié à une présence possible du prion ESB chez les ovins et les caprins, pour les différents organes, tissus, le sang et le lait, au regard de ses modes de transmission et en fonction du pays ou de la région d'origine, de l'espèce, du mode d'élevage, de la date de naissance et des caractéristiques génétiques notamment.* »

C'est dans ce contexte que le Comité d'experts sur les ESST a élaboré un avis général en date du 31 décembre 2001, relatif à « l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d'évolution » qui comprend 9 parties :

1. L'analyse des risques liés aux ESST des petits ruminants pour la santé publique ;

2. L'analyse des bases scientifiques et techniques, des intérêts et limites des mesures actuelles de protection du consommateur dans l'hypothèse de la présence de l'ESB chez les petits ruminants ;

3. Les avancées scientifiques et technologiques ouvrant la possibilité de faire évoluer le principe des mesures actuellement en place ;

4. L'épidémiologie des ESST chez les petits ruminants ouvre la possibilité de mesures basées à terme sur l'identification de cheptels de statut connu comme sources de denrées alimentaires ;

5. La validation d'outils et la mise en place d'un réseau de typage de souches permettraient l'adaptation des mesures dans les cheptels atteints identifiés au point 4 ;

6. Des contrôles individuels peuvent fournir des garanties additionnelles pour certaines denrées de petits ruminants issus de cheptels de statut inconnu ;

7. La mise en œuvre de plans d'amélioration génétique représenterait un axe majeur, mais retardé dans le temps, d'amélioration de la situation sanitaire ;

8. Production, importation et consommation de denrées issues de petits ruminants ;

9. Avis du Comité

Compte tenu de l'ensemble de ces données et sur le fondement de l'avis du Comité d'experts sur les ESST, voici les éléments de réponse que l'Agence est en mesure d'apporter aux différentes questions posées :

1) S'agissant de la situation comparée de la France et au Royaume-Uni au regard des niveaux d'exposition et d'infection des petits ruminants au cours des dix dernières années

Cette question est traitée dans les parties 1 et 7 de l'avis du Comité qui a retenu la notion selon laquelle, compte tenu de l'état d'avancement des typages de souches en Grande-Bretagne, la valeur maximale du taux de prévalence de l'ESB au sein des isolats dont ils sont représentatifs serait de l'ordre de 2% ($p = 0.05$). Les échanges récents en date du 14 février 2002 entre la Food Standards Agency (FSA) et l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments n'ont pas apporté d'éléments conduisant à modifier cette estimation, pas plus que les publications scientifiques intervenues depuis le début de l'année 2002.

La question de la comparaison de la prévalence des ESST chez les petits ruminants en France et au Royaume-Uni est traitée dans la partie 6 de l'avis du Comité qui fait le point d'une part sur les données disponibles en matière de cas déclarés dans l'un et l'autre pays, d'autre part sur les facteurs à prendre en compte pour estimer l'écart entre le nombre de troupeaux détectés et la réalité de la prévalence dans l'attente des résultats qui sont issus des programmes de dépistage.

2) S'agissant de la méthodologie employée dans l'étude britannique relative au mélange de cerveaux :

Les échanges entre la FSA et l'AFSSA ont confirmé que les travaux relatifs à la présence de l'agent de l'ESB dans des échantillons de système nerveux central ne sont pas interprétables au regard de la problématique de la présence de l'ESB ovine chez les petits ruminants.

3) **S'agissant des résultats disponibles concernant la recherche de la présence de prion ESB en France:**

Comme il l'a été récemment indiqué, les résultats des recherches n'ont pas conduit à ce jour à identifier de souches attribuables à l'ESB parmi les isolats étudiés. Les travaux doivent cependant être poursuivis, dans le cadre d'un programme de typage de souches dont l'ampleur pourrait être accrue une fois mis en œuvre le dépistage actif de la tremblante.

4) S'agissant enfin de l'évaluation quantifiée des risques pour le consommateur :

L'avis ci-joint procède à une analyse des risques potentiels pour les différents organes des petits ruminants et à leur quantification. Il convient de souligner qu'il s'agit d'une approche théorique. Notamment, en ce qui concerne la question des produits laitiers, le Comité a étudié deux scénarios possibles : l'un qualifié de maximaliste, l'autre qualifié de minimaliste. Le Comité a attiré l'attention sur le fait que ces calculs n'ont pas la valeur d'une publication scientifique et doivent être considérés comme des hypothèses de travail, en l'absence d'analyse de risque publiée et alors que l'infectiosité du lait n'a jamais été démontrée à ce jour.

Ces scénarios n'auraient de validité que pour des produits laitiers issus de cheptels qui auraient été atteints par l'agent de l'ESB et sans qu'il puisse être indiqué , en l'état actuel des connaissances, si l'un de ces scénarios puisse être considéré comme un scénario réaliste compte tenu de la très forte marge d'incertitude sur l'infectiosité potentielle des produits laitiers issus de cheptels qui auraient été atteints par l'ESB .

Plus généralement l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que:

1) L'avis, en date du 31 décembre 2001, du comité d'experts spécialisé sur « l'analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d'évolution », ci-joint, constitue la réponse de l'agence aux questions qui lui ont été posées et aux enjeux sanitaires identifiés sur cette problématique ;

2) Elle continue de recommander que soit prise en compte l'éventualité de la présence de l'agent de l'ESB pour l'évaluation et la maîtrise des risques liés aux ESST chez les petits ruminants ; cette hypothèse a déjà été considérée comme plausible dans les avis précédents et a d'ailleurs justifié que les mesures prises en France depuis plusieurs années pour lutter contre la tremblante, conjuguent des objectifs de santé animale et des objectifs de sécurité sanitaire ; il n'y a pas à ce stade d'élément nouveau pour considérer cette présence comme avérée, ni pour l'exclure ;

3) Elle fondera les avis ultérieurs qu'elle sera conduite à émettre à la suite de saisines particulières, comme celles qui concernent les programmes de dépistage ou les stratégies d'amélioration génétique, sur les bases scientifiques contenues dans le présent avis ; dès lors, les indications qui lui seront données, et dont elle n'a pas pu tenir compte à ce stade, sur les critères retenus pour la gestion du risque, la faisabilité des différentes mesures envisageables, le délai dans lequel seraient mises en œuvre celles qui seraient retenues, seront des éléments essentiels pour que ses évaluations à venir s'inscrivent dans une vision cohérente de la stratégie de lutte contre les ESST chez les petits ruminants et de réduction du risque potentiel pour les consommateurs ;

4) Dans cette perspective, elle appelle l'attention sur l'importance qui s'attache à la prise en compte des questions spécifiques aux importations et aux échanges intracommunautaires, compte tenu de l'impact possible sur le niveau général de protection des consommateurs d'écarts entre les dispositifs retenus dans les différents pays, notamment ceux dans lesquels l'exposition passée des cheptels à l'agent de l'ESB a été la plus élevée, et celui qui serait considéré comme justifié au niveau national au vu de l'analyse de risque contenue dans cet avis ;

5) Compte tenu de l'ensemble des considérations qui figurent dans l'analyse ci-jointe et dans l'état actuel des connaissances scientifiques, elle se propose de retenir pour ses évaluations et recommandations à venir l'objectif d'un niveau de sécurisation des produits issus des petits ruminants, y compris dans le cas où serait ultérieurement avérée la présence de l'agent de l'ESB, analogue à celui qui peut être estimé pour les produits issus de bovins.

Fait à Maisons-Alfort, le 18 février 2002

Le Directeur Général de
l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Martin HIRSCH

Avis du Comité sur l’analyse des risques liés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles dans les filières petits ruminants, les forces et faiblesses du dispositif actuel et les possibilités d’évolution

Le Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST a été consulté sur l'élaboration d'un avis général sur les ESST des petits ruminants, dans le cadre d'une saisine datée du 13 novembre 2001, sur une demande d'avis datée du 7 novembre 2001 de la Direction Générale de l'Alimentation, de la Direction de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, et de la Direction Générale de la Santé. Cette consultation de l'AFSSA doit permettre de disposer, émanant du Comité, « des bases scientifiques pour répondre aux questions qui, parmi celles contenues dans la saisine, demeurent d'actualité ». Ces questions correspondent à « *l'évaluation des risques pour le consommateur liés à une présence possible du prion ESB chez les ovins ou caprins…* » et « *dans la mesure du possible, à quantifier les risques identifiés, avérés ou théoriques dans la perspective d'une évaluation de l'exposition globale des consommateurs* ».

Le Comité a donc conduit une analyse, quantifiée dans la mesure où les données disponibles pouvaient le permettre, sur :

1-les éléments disponibles sur les risques d'occurrence de la souche d'ESB chez les petits ruminants et leur interprétation,

2-l'analyse du degré de sécurisation que confèrent les mesures réglementaires actuelles au regard de ce risque, et leurs limites éventuelles.

Par ailleurs, le Comité, au regard de ses conclusions du point 2, a considéré qu'il relevait de ses missions de fournir aux décideurs une vision aussi exhaustive que possible des mesures nouvelles rendues possibles par l'amélioration récente des connaissances scientifiques, des méthodes, ou des outils technologiques. Le descriptif de ces mesures et leur impact possible en matière de santé humaine et animale sont décrits aux points 3 à 8. Particulièrement, une attention spécifique a été apportée à la mise en évidence des contraintes de durée (en dehors de toute considération additionnelle de logistique de mise en place) ainsi qu'aux prérequis nécessaires à certains types d'action, qui pourraient conditionner certains choix d'anticipation. Enfin, le Comité a émis un avis (point 9) sur la hiérarchie de ces mesures et leur chronologie de mise en place en fonction des critères de décision qui pourraient être retenus par les pouvoirs publics.

1- ANALYSE DES RISQUES LIES AUX ESST DES PETITS RUMINANTS POUR LA SANTE PUBLIQUE

1.1 Analyse des données disponibles sur les risques d'occurrence de la souche d'ESB chez les petits ruminants

a) les populations de petits ruminants ont été exposées à l'agent de l'ESB et leur contamination a été possible

Depuis la démonstration expérimentale de la sensibilité des ovins par voie orale, et par extension, des petits ruminants, à l'agent de l'ESB, la question du passage dans les conditions naturelles de l'agent de l'ESB aux petits ruminants a été posée. L'analyse des facteurs d'exposition par voie alimentaire conduit à considérer que les conditions ont pu être réunies dans le passé.

Ainsi, au Royaume Uni, les farines n'ont été interdites chez les petits ruminants qu'en 1988 et des conditions de contamination croisées ont pu exister au moins jusqu'en 1996, date d'interdiction complète de ces farines dans toutes les espèces. En France, l'utilisation de ces farines a été interdite en 1994. Malgré le retrait des MRS en 1996 pour la fabrication des farines destinées aux non ruminants, des risques de contamination ont pu subsister, comme le suggère l'apparition de cas bovins nés après cette date. L'interdiction totale des farines est datée de novembre 2000.

En France, les systèmes de production de viande ovine sont diversifiés et les schémas d'alimentation des agneaux et brebis sont nombreux et très hétérogènes (en fonction de la race [50 races ovines en France], du système d'élevage [plein air, semi plein air, bergerie], de la région de production,...). Les principaux types de production sont :

1- les agneaux de lait ou agnelet (production peu importante sauf dans certaines régions; poids de carcasse : de 7-13 kg)

2- les agneaux de bergerie ou agneaux de 100j ; cette production représente 50% de la viande ovine produite en France (poids de carcasse : de 15-22kg) ; ces agneaux de bergerie peuvent être issus de brebis allaitantes ou laitières ; dans le cas particulier du bassin de Roquefort, ces agneaux sont souvent élevés dans des élevages d'engraissement spécialisés ;

3- les agneaux d'herbe ou agneaux « gris » ; généralement vendus à plus de 6 mois, ils représentent 20 à 25% de la viande ovine produite en France ;

4- les brebis et béliers de réforme, qui représentent 15 à 20% du tonnage de viande ovine nationale.

Le principe général du schéma d'alimentation des ovins peut être résumé comme suit avec trois grandes périodes :

- la PERIODE DE LA NAISSANCE AU SEVRAGE ; l'alimentation est essentiellement sinon exclusivement lactée. Selon les régions et les systèmes de production, la séparation d'avec la brebis peut intervenir entre très tôt (dès la naissance) ou l'allaitement durer jusqu'à 4-5 mois. Lorsque la séparation survient très tôt, l'agneau est allaité artificiellement avec des lacto-remplaceurs. L'allaitement artificiel dans les autres cas est surtout utilisé en cas d'agneaux doubles ou triples que la brebis ne peut nourrir : ainsi par exemple, en région Provence-Alpes-Cote d'Azur, environ 10% des agneaux sont nourris par allaitement artificiel suivi d'un passage progressif à partir du premier mois à une alimentation solide ; il peut être noté que les brebis dont le lait est destiné à la fabrication de fromage (brebis laitières) allaitent leurs agneaux au moins jusqu'au premier mois (à l'exemple du bassin de Roquefort où le décret de l'AOC précise que le lait ne peut être utilisé pour la fabrication de fromage qu'à partir du 25ème jour suivant la mise-bas) ;

- la PERIODE DE CROISSANCE qui s'étend du sevrage à la finition pour les agneaux destinés à la boucherie ou à l'incorporation dans le troupeau pour les agnelles ou béliers de renouvellement ; dans ces cas, l'alimentation peut être à base de poudre de lait (ou lait artificiel) selon la date de séparation avec la mère, suivie d'aliments concentrés (granulés 1er âge et aliment croissance ou aliment d'engraissement ; voir tableau 1 de composition des aliments complémentaires) et/ou d'herbe ;

- la PERIODE DE PRODUCTION qui concerne les animaux adultes du troupeau (agnelles, brebis et béliers) avec une alimentation à base d'herbe (prairies permanentes ou artificielles, parcours de montagne, chaumes, etc...), de foin, de paille, d'ensilage selon les régions et la saison. Certaines périodes de la vie des brebis et des béliers peuvent donner lieu à des complémentations par des aliments concentrés : au moment de la lutte (« flushing »), avant la mise-bas (« steaming ») et/ou lors de la lactation.

En plus de leur ration de base, un aliment minéral et vitaminique (AMV) peut être distribué selon des périodes plus ou moins longues de leur vie.

Au regard du risque lié à l'utilisation de protéines et graisses d'origine animale chez les ovins et les caprins, les aliments concernés sont les concentrés, le CMV (avec le phosphate bicalcique) et les lacto-remplaceurs. La composition des aliments concentrés pour ovins et caprins est assez proche de celle des bovins et la nature des matières premières varie fortement en fonction des cours du marché.

Il convient de rappeler à ce stade que la situation française, entre les régions, les races et les systèmes d'élevage, est très hétérogène.

L'alimentation des ovins et caprins dans les autres pays européens, notamment dans les pays exportateurs de viande ovine en France (RU, Pays-Bas, Espagne, etc..) est très comparable avec le même niveau d'hétérogénéité.

L'alimentation des chèvres suit le schéma général établi pour les ovins avec des particularités spécifiques liées au statut de forte productrice laitière, particulièrement dans les bassins à forte production spécialisée (à l'exemple de la région Poitou-Charentes).

Tableau 1 : Composition type des aliments concentrés destinés aux agneaux
D'après C. Dudouet, La production du mouton, Editions France Agricole (1997)

	Aliment de démarrage	Aliment de croissance
CATEGORIES D'INGREDIENTS	Grains de céréales Coproduits de sucrerie Coproduits de graines oléagineuses Coproduits de céréales Protéagineux et coproduits Fourrages séchés Prémélanges Minéraux	Grains de céréales Coproduits de sucrerie Coproduits de graines oléagineuses Coproduits de céréales Protéagineux et coproduits Fourrages séchés Prémélanges Minéraux
CONSTITUANTS ANALYTIQUES POUR CENT	Protéines brutes 17 Matières grasses brutes 2,2 Cellulose brute 7 Cendres brutes 9	Protéines brutes 16,5 Matières grasses brutes 2 Cellulose brute 10 Cendres brutes 9
VITAMINES (POUR 1 KG)	A 10000 U B1 10 mg D3 2000 U E 10 mg	A 10000 U B1 10 mg D3 2000 U E 10 mg
MODE D'EMPLOI	A distribuer dès 5 jours aux agneaux et chevrettes. Renouveler quotidiennement	Aliment pour agneaux en croissance. A donner à volonté jusqu'à 1 kg par tête et par jour. Laisser du fourrage (foin de pré ou de paille) à volonté aux agneaux

Pour ce qui concerne les usages de terrain, d'après un document de l'AFSSA[1] compilant diverses sources, les compléments concentrés énergétiques contenaient jusqu'à 0,5% de graisses animales, utilisées jusqu'en décembre 1993, et les concentrés azotés jusqu'à 0,5% de graisses animales et 5% de protéines animales (hors poissons), utilisées jusqu'en décembre 1989. Des graisses de peau ont été incorporées jusqu'en 1996. Pour les lacto-remplaceurs, les graisses animales (essentiellement suif) peuvent être présentes quand l'aliment est donné froid. Le phosphate bicalcique provient du traitement des os pour moins de 25% de la consommation. Bovins et ovins ont donc eu des régimes assez proches. Les brebis ont pu consommer légalement des concentrés azotés d'origine animale jusqu'en 1994. Les graisses animales (os, suif) sont encore utilisées mais leur utilisation décroit (anticipation d'une interdiction), sauf dans

[1] *Pratiques de l'alimentation des ovins et caprins, AFSSA, 22 Novembre 2001*

les lacto-remplaceurs (suifs).Pour ces derniers l'utilisation depuis mi-2001 de graisses bovines prélevées avant la fente de la colonne vertébrale devrait avoir considérablement limité le risque correspondant.

b) Les conditions d'un entretien ultérieur en l'absence d'exposition alimentaire existent

Les données actuellement disponibles ne suggèrent pas une distribution tissulaire différente de l'agent responsable de l'ESB chez les petits ruminants par rapport aux données connues en matière de tremblante (voir § 2.1). En conséquence, l'analyse suivante des risques d'entretien de la souche d'ESB en cas de contamination initiale est essentiellement fondée sur les données connues en matière de tremblante.

b.1) Sources et matières virulentes

La transmission de l'infection par des ovins en phase préclinique, repose sur des arguments convergents, issus pour la plupart d'observations réalisées en élevages atteints. L'introduction d'ovins infectés en phase préclinique est fréquemment suggérée pour expliquer l'apparition de la tremblante, dans des troupeaux considérés jusque là comme indemnes (Hoinville 1996) (Ducrot & Calavas 1998). Le risque d'apparition de tremblante clinique ne semble pas différent pour les agneaux nés dans l'année précédant l'apparition des symptômes chez la mère, et pour les agneaux nés pendant la phase clinique maternelle (Parry 1983). Dans une étude norvégienne, l'introduction de brebis a été démontrée comme étant un facteur de risque (cf. infra). (Hopp et al. 2001)

Différentes sécrétions et excrétions, différents organes ont été testés pour évaluer la présence d'infectiosité ou de PrPres (Tableau 1). Les résultats doivent être interprétés en tenant compte au moins du seuil de détection de la technique et de la pertinence de l'échantillon animal (espèce, nombre, génotype PRNP, tremblante naturelle ou expérimentale, phase clinique ou préclinique).

Dans les conditions d'essai, aucune infectiosité n'a été décelée dans les féces, l'urine, la salive, le colostrum, le lait, le sperme d'ovins infectés. Toutefois de la PrPres a récemment été détectée dans l'urine (Shaked et al. 2001) de certaines espèces (bovins, hamster, homme), sans qu'une infectiosité ait été recherchée chez les bovins et l'homme. Chez le hamster, les résultats de transmission ont montré la présence de PrPres chez les receveurs, sans développement de symptômes, et ne peuvent donc être interprétés comme démontrant de manière certaine la présence d'une infectiosité dans l'urine. Aucune donnée comparable n'est disponible chez les petits ruminants. Par ailleurs, une infectiosité a été mise en évidence dans certains organes ou tissus, comme les glandes salivaires, la muqueuse nasale et les intestins (Hadlow et al. 1980a; Pattison & Millson 1962) (Hadlow et al. 1982). L'ensemble de ces éléments suggère pour l'urine, la salive, le jetage, les féces, la possibilité d'une très faible infectiosité et/ou d'une excrétion irrégulière.

Seule l'infectiosité du placenta est bien démontrée, sans être constante. Ainsi une infectiosité et de la PrPres ont été mises en évidence sur 8 placentas issus de 12 brebis infectées. Sur une même brebis, de la PrPres a été détectée sur le placenta lors d'une gestation et pas à la suivante. La présence de PrPres placentaire a été décelée jusqu'à 470 jours avant l'apparition des premiers signes cliniques sur la brebis. L'infectiosité du placenta semble du même ordre de grandeur que celle de la rate (Race et al. 1998). La distribution de la PrPres a récemment été localisée à l'endomètre de la caroncule et allantoïdien cotylédonaire (Tuo et al. 2001). Les possibles variations de dose infectieuse ne sont pas documentées.

Le rôle du placenta est souvent mis en avant dans la transmission. Les annexes foetales souillent abondamment le périnée et la mamelle, ainsi que l'environnement. L'agneau peut alors se contaminer lors de la tétée ou par léchage. Le placenta peut être ingéré par une brebis voisine et ainsi la contaminer. L'infectiosité ne serait pas modifiée par le passage digestif et se retrouverait alors dans les féces (Dickinson 1976) cité par (Hoinville 1996). La contamination de l'environnement (litière, pâturage) est donc possible à partir de ces matières fécales infectées ou par persistance du placenta lui même, dans la zone d'agnelage.

b 2) Transmission inter individuelle

Un effet dose-réponse est démontré dans les essais expérimentaux de transmission, et se caractérise, quand l'inoculum est dilué, par une incidence plus faible de la maladie et un allongement de la période d'incubation (Kimberlin & Walker 1978). Dans les conditions naturelles, ces deux critères d'incidence et de durée d'incubation, dépendent de facteurs liés à l'exposition (dose d'agent infectieux à laquelle les animaux sont exposés et durée de l'exposition, en particulier pour des doses répétées) et à la réceptivité des animaux (d'origine génétique –polymorphisme du gène PRNP-, ou liée à des critères secondaires comme l'âge).

La transmission horizontale ou latérale, est bien établie (Brotherston et al. 1968) (Dickinson 1974). L'introduction de 140 agneaux, issus d'un troupeau considéré comme indemne et alors âgés de 3 ou 9 mois, dans un cheptel infecté, a conduit à l'apparition de signes cliniques de tremblante sur 5 des 140 animaux, dans un délai de 64 à 93 mois (Hourrigan et al. 1979).

L'importance relative des modalités directes et/ou indirectes de la transmission horizontale est mal connue.

La réduction du titre infectieux d'un homogénat de cerveau de hamster, expérimentalement infecté, n'était que de 2 à 3 log après 3 ans dans la terre (Brown & Gajdusek 1991). Ce résultat combiné aux connaissances sur l'extraordinaire résistance aux agents physiques et chimiques des prions, suggèrent la possibilité d'une transmission indirecte à partir de l'environnement contaminé. Toutefois cette hypothèse est à nuancer par une charge infectieuse probablement plus faible des excrétats et une possible dilution, en particulier au pâturage.

Une série d'observations réalisées en Islande suggèrent un rôle de l'environnement dans le processus de contamination. Un programme d'éradication de la tremblante a été mis en œuvre dans ce pays depuis 1978 (Sigurdarson & Ducrot 1998). Le pays a notamment été divisé en zones de quarantaine dans les années cinquante, pour lutter contre l'adénomatose et le Maëdi - Visna (deux maladies virales du mouton), ce qui a permis de constituer des zones indemnes de tremblante à partir desquelles les exploitations atteintes de tremblante ont pu être repeuplées. Le programme d'éradication, bâti avec les éleveurs, est extrêmement draconien et comprend, pour tout troupeau déclaré infecté de tremblante :

- euthanasie du troupeau et enfouissement des cadavres à 1,5 m de profondeur, avec plantation d'arbres sur les zones d'enfouissement
- enfouissement des déjections, élimination du foin récolté sur l'exploitation pendant deux ans ;
- nettoyage approfondi à haute pression (150 Bar/cm^2) avec une solution détergente des bergeries et du matériel, puis désinfection (500ppm hypochlorite), aérosol d'iodophores, destruction des acariens par deux traitements acaricides successifs, enduit des locaux jusqu'à 1,50 m de hauteur avec créosote et peinture. Les bergeries impossibles à nettoyer correctement sont détruites et brûlées ; les surfaces difficiles à nettoyer sont passées au lance flamme.
- le sol autour des bâtiments est éliminé, et les alentours recouverts de terre nouvelle, de gravier ou d'asphalte.
- après deux années de vide sanitaire, repeuplement avec des ovins issus de zones indemnes de tremblante.

De 1978 à 1997, ce plan d'éradication de la tremblante a été appliqué dans 800 exploitations (145 000 ovins euthanasiés), 500 d'entre elles ayant reconstitué un troupeau ovin depuis. Parmi elles, la tremblante est réapparue dans 25 exploitations, soit dans 5% des cas. La réapparition de la maladie est intervenue le plus souvent deux à trois ans après le repeuplement du troupeau. La principale hypothèse pour expliquer la réapparition de la tremblante est le maintien de l'agent pathogène dans les exploitations, en dépit des mesures mises en œuvre. En effet, les mesures du programme semblent avoir été bien appliquées, y compris dans les élevages ayant connu une réapparition de tremblante.

La transmission de la mère à l'agneau recouvre plusieurs modalités biologiques (post-natale et ante-natale), difficiles à distinguer dans les études réalisées.

Le risque d'être ultérieurement atteint de tremblante est plus élevé pour les agneaux issus de brebis infectées que pour les agneaux du même troupeau mais issus de brebis non atteintes. Le rapport d'incidence varie de 1.85 à 4.80 selon les études (Hoinville 1996). Le risque attribué au statut infectieux des parents serait beaucoup plus réduit que le risque attribuable à une transmission horizontale ne mettant pas en cause la relation de parenté mère-agneau. Dans un troupeau à forte incidence de tremblante naturelle, aucune différence sur la présence de PrPsc n'a été mise en évidence pour des agneaux de génotype PRNP S/S et âgés de 3 mois, selon qu'ils sont issus de brebis S/S ou R/S infectées[2]. Toutefois, l'analyse des risques pour ce même troupeau a montré que le statut infectieux de la mère change le risque pour les agneaux VRQ/VRQ et que, à génotype PRNP donné, un agneau né de mère sensible saine a un risque supérieur à un agneau né de mère résistante saine (Elsen et al. 1999)

Le risque de transmission post-natale a été évalué par le retrait des agneaux de l'environnement contaminé, à des âges différents (Tableau 2). Le risque de tremblante clinique semble s'accroître avec la durée de l'exposition dans un environnement contaminé. Toutefois dans ces études, il n'est pas possible de distinguer la transmission directe à partir de la mère, de la transmission indirecte à partir de l'environnement. En effet les observations sur le terrain sont souvent difficiles à interpréter à cause de la confusion de différents facteurs de contamination.

L'allaitement artificiel, associé à un retrait des agneaux de la mère, conduit à réduire l'incidence de tremblante par rapport à l'allaitement maternel, sans qu'il soit possible d'en préciser la raison (Elsen et al. 1999). Par ailleurs, quatre publications rapportent que le lait issu de brebis ou de chèvre atteinte de tremblante n'est pas infectieux (Tableau 2). Toutefois ces résultats ont été obtenus à partir d'un petit nombre d'ovins et de caprins et de génotype PRNP inconnu. L'infectiosité était recherchée par inoculation à la souris (sauf (Pattison & Millson 1961)), introduisant ainsi une barrière d'espèce et réduisant la sensibilité de détection.

L'existence d'une transmission verticale au sens strict (transplacentaire, ante-natale), n'est pas clairement documentée. L'infectiosité du sperme n'a pas été démontrée. L'infectiosité des ovaires et de l'utérus a été rapportée par une seule équipe (Hourrigan 1990). Toutefois la transmission *in utero* n'a pas été démontrée formellement.

Les résultats des essais de transfert embryonnaire sont discordants. Une équipe américaine a transféré des embryons prélevés sur des brebis infectées naturellement ou expérimentalement, à des brebis issues d'élevages indemnes. Sur les agneaux, aucun trouble clinique de tremblante n'a été détecté sur une période d'observation de 60 mois. Aucune accumulation de PrPres n'a été mise en évidence dans l'encéphale. Les brebis receveuses ne semblent pas avoir été contaminées (Foote et al. 1993; Wang et al. 2001) Toutefois le génotype PRNP des receveuses en particulier, n'a pas été précisé. Une équipe britannique, conclut à une transmission possible de la tremblante par l'embryon ovin mais avec l'impossibilité d'exclure une contamination des agneaux à partir des brebis receveuses (Foster et al. 1992; Foster et al. 1996b) Ultérieurement, la même équipe, mais sur un modèle différent, n'a pas démontré la transmission d'une souche d'ESB aux animaux issus du transfert d'embryons de chèvres infectées à des chèvres indemnes (Foster et al. 1999).

b.3 Vecteurs de transmission

Différents vecteurs de transmission de la tremblante ont été suggérés, comme les acariens des fourrages dans les conditions naturelles (Wisniewski et al. 1996). Dans des conditions expérimentales, des larves de mouches de l'espèce *Sarcophaga carnaria*, alimentées sur des encéphales de hamsters infectés par la tremblante, semblent susceptibles de recontaminer des

---

[2] *R correspond à l'allèle de résistance = ARR ; S correspond à un des allèles de sensibilité = ARQ ou VRQ*

hamsters après ingestion (Post et al. 1999), mais la pertinence de cette étude dans les conditions naturelles est très faible.

Un vaccin destiné à protéger contre une encéphalite virale, le louping ill, et préparé à partir de suspensions de cerveaux de moutons infectés par la tremblante, a été un probable vecteur de transmission en Grande Bretagne (Greig 1950).

Récemment, le rôle d'un vaccin dirigé contre *Mycoplasma agalactiae* a été mis en cause dans l'augmentation de l'incidence de la tremblante en Italie en 1997 -1998 (Caramelli et al. 2001).

b.4 Voies de pénétration

Les voies de pénétration orale, transcutanée par scarification et conjonctivale ont été décrites La voie orale serait la voie majeure de contamination dans les conditions naturelles (Hoinville 1996).

b.5 Transmission entre élevages

Une enquête cas (42 élevages) –témoin (126 élevages) réalisée en Norvège (Hopp et al 2001) a permis de mettre en évidence différents facteurs de risque de survenue de la tremblante en élevage :

- l'introduction d'au moins une femelle dans les dix années précédentes versus aucune introduction (OR[3] = 8.5 ; IC[4] 90% 2.1 –34.6 ;)
- le prêt de béliers entre troupeaux dans l'année précédente versus aucun prêt (OR = 4.2 ; IC 90 % 1.5 – 11.2 ;)
- le partage de pâturages communs pendant la saison estivale avec au moins un troupeau atteint de tremblante, dans les 10 années précédentes versus aucune mise en commun de pâturage (OR = 5.3 ; IC 90 % 1.7 –16.6 ;)

Ces résultats confirment des observations réalisées en élevages infectés et suggérant un rôle majeur des brebis achetées et des pâturages communs en estive, pour expliquer l'introduction de la tremblante dans les troupeaux (Ducrot & Calavas 1998).

---

[3] *OR = Odd Ratio*

[4] *IC = Intervalle de Confiance*

Tableau 2. Infectiosité des sécrétions et excrétions issues d'ovins et caprins infectés par l'agent de la tremblante Dom. Costa : IC confiance

Excrétion/sécrétion	Origine		Détection		Résultat		Référence :
	Espèce	Phase clinique	Espèce	Voie	Nb de positif / Nb d'Ov ou Cp	Borne sup de l'InC à 95 %	
Fèces	Ov	-	Souris	IC	0/8	36,9	(Hadlow et al. 1982)
	Ov	?	Souris	IC	0/4	60,2	Hourrigan 1980
	Cp	+	Souris	IC	0/3	70,8	(Hadlow et al. 1980a)
	Cp	+	Cp	IC	0/1	97,5	(Pattison & Millson 1961)
	Cp	+	Cp	PO	0/ ?		(Pattison 1964)
Salive	Ov	+	Souris	IC	0/9	33,6	(Hadlow et al. 1982)
	Ov	?	Souris	IC	0/2	84,2	(Hourrigan 1990)
	Cp	+	Cp	IC	0/1	97,5	(Pattison & Millson 1961)
	Cp	+	Cp	PO	0/ ?		(Pattison 1964)
Urine	Ov	?	Souris	IC	0/4	60,2	(Hourrigan 1990)
	Cp	+	Souris	IC	0/3	70,8	(Hadlow et al. 1980a)
	Cp	+	Cp	IC	0/1	97,5	(Pattison & Millson 1961)
	Cp	+	Cp	IC	0/14	23,2	(Pattison & Millson 1962)
Liquide ammiotique	Ov	?	Souris	IC	1/1		(Hourrigan 1990)
Colostrum	Ov	-	Souris	IC	0/1	97,5	(Hadlow et al. 1982)
	Ov	?	Souris	IC	0/3	70,8	(Hourrigan 1990)
Lait	Ov	?	Souris	IC	0/6	45,9	(Hourrigan 1990)
	Cp	+	Souris	IC	0/3	70,8	(Hadlow et al. 1980a)
	Cp	+	Cp	IC	0/1	97,5	(Pattison & Millson 1961)
Sperme	Ov	?	Souris	IC	0/21	16,1	(Hourrigan 1990)

IC : voie intracérébrale ; PO : per os ; InC : intervalle de confiance

Tableau 3. Relation entre l'incidence de la tremblante et la durée de l'exposition

Exposition	Age (mois) au retrait de l'exposition	Nombre d'animaux exposés	Incidence (en pourcentage)	Référence
Troupeau infecté	0	63	10	(Hourrigan et al. 1979)
	4	32	16	
	9	17	29	
	20	32	41	
Troupeau infecté	0	23	13	(Dickinson et al. 1965)
	pas de retrait	20	25	
Descendance de brebis naturellement infectées	0	7	29	Dickinson et al 1966
	pas de retrait	8	75	
Descendance de brebis inoculées	0	109	4	(Greig 1950)
	pas de retrait	115	15	

c) Eléments de quantification

Si les conditions d'exposition à la souche d'ESB et d'entretien ultérieur ont donc pu être réunies, l'analyse des risques correspondant pour la santé humaine nécessite d'évaluer quel pourrait être le niveau de prévalence passé, actuel et futur de l'infection des petits ruminants par cette souche.

Deux éléments de quantification sont disponibles : l'un fondé sur les données de typage de souche, l'autre sur une analyse de risque fondée sur le niveau d'exposition.

c.1) Quantification fondée sur les données de typage de souche

Dans l'état actuel des informations du Comité, des expérimentations ont été initiées en Grande Bretagne sur environ 180 isolats sans que l'on connaisse ni le nombre d'isolats pour lesquels les résultats sont considérés comme définitifs, ni le plan d'échantillonnage de ces isolats (nombre de cheptels de provenance, répartition géographique de ces cheptels, date de première occurrence de la maladie, etc.). Sous l'hypothèse favorable où ces isolats auraient été prélevés dans des cheptels différents et s'avéreraient tous négatifs, la valeur maximale du taux de prévalence de l'ESB au sein des isolats dont ils sont représentatifs serait de l'ordre de 2% (p = 0.05). Ce taux maximal serait supérieur en cas d'isolats non indépendants.

En France les travaux de typage de souches en cours ne portent que sur un très faible nombre d'isolats. Au total, le panel classique de souris RIII, C57BL, VM a été inoculé au sein des laboratoires de l'INRA (Nouzilly) avec des échantillons provenant de deux troupeaux de moutons de l'INRA, un troupeau de mouflons, un mélange de dix cerveaux de moutons provenant de 10 troupeaux différents, soit un total de 13 échantillons. Parmi ces échantillons, une réponse définitive (négative au sens de l'ESB) n'est acquise que pour l'un des troupeaux de l'INRA. Les autres expérimentations sont encore en cours. Pour le pool de cerveaux, les résultats, partiels et complexes, sont encore difficiles à interpréter. Pour les prélèvements individuels, aucun élément, en particulier les durées d'incubation et les western-blots, ne permet

de suggérer la présence d'une souche ESB. L'examen des profils lésionnels apportera dans l'avenir une réponse définitive.

Le Comité rappelle que la puissance statistique de ce type d'essai dépend du nombre de souches typées. En France, les données de l'année 2000 recensent 95 665 exploitations ovines et 27 286 exploitations caprines soient 122951 exploitations. Ainsi, avec l'hypothèse d'un taux maximal de cheptels atteints d'ESST de 3%[5] , 3688 exploitations pourraient être au maximum atteintes en France. Il serait nécessaire de typer environ 550 isolats, pour, en cas de résultats négatifs, pouvoir exclure l'hypothèse de la circulation d'une souche d'ESB dans plus de 18 troupeaux (0.5%[6]) au seuil de risque p =0.05.

Comme d'autres instances nationales ou communautaires[7], le Comité estime donc qu'en l'état actuel des recherches, le fait qu'aucun cas d'ESB ait été détecté chez les petits ruminants apporte peu de garanties quant à la réelle absence de l'ESB dans ces espèces.

c.2) Quantification fondée sur des travaux d'analyse de risque

Récemment une analyse de risque a été publiée sur la fréquence et la durée d'une éventuelle présence de la souche d'ESB chez les moutons du Royaume Uni (Kao et al. 2001). Elle prend en compte les données de base sur la sensibilité génétique à la tremblante, les connaissances actuellement limitées sur la fréquence des allèles de la PrP au sein du cheptel britannique, les doses infectieuses (considérées au pire comme équivalentes à celles des bovins), l'exposition des ovins aux farines animales (à l'exclusion de toute autre source alimentaire) par rapport à celle des bovins. Dans ces conditions, en fonction des scénarios envisagés et du type de production, entre 0.0016% et 0.19% des moutons auraient été infectés en 1988, année considérée comme le pic d'exposition. Le nombre de cas cliniques d'ESB en 1990 chez les ovins aurait été compris entre 80 et 210 cas. Pour ce qui concerne les risques de pérennisation depuis cette date d'exposition maximale initiale et l'année 2001, l'analyse ne retient que le mode de transmission d'origine maternelle, à l'exclusion de tout autre mode horizontal, ce qui ne prend pas en compte les connaissances accumulées en matière de tremblante (voir § 1.1.b). Le scénario prédit un nombre très faible de cas cliniques en 2001 (entre 0 et 19 cas). Par contre, en intégrant les risques de transmission horizontale, l'analyse prédit que le faible nombre de cas prévus pour l'année 2001 ne préjuge pas du nombre de cas à venir dans les dix prochaines années, et qu'un nombre initial de cas annuels limité actuellement à quelques dizaines reste compatible avec une cinquantaine de cas annuels en 2005 et cent cas annuels en 2015.

En résumé, cette analyse est compatible, pour ce qui concerne la situation britannique :

- avec l'existence passée, présente et future de l'ESB chez les ovins,
- avec une exposition passée, et à moindre niveau, présente, des consommateurs au risque ESB au travers de la filière mouton,
- avec un nombre de cas cliniques actuel faible, qui pourrait ne pas émerger du bruit de fond des cas de tremblante. Ceci conduit à ne pas considérer que, par comparaison avec l'ESB bovine, l'absence d'explosion du nombre de cas d'ESST chez les petits ruminants serait une preuve indirecte de l'absence de passage de la souche d'ESB dans ces espèces,
- avec une augmentation progressive de l'incidence au cours des prochaines années, qui incite à ne pas considérer la situation passée et actuelle comme une situation à risque supérieur à ce qu'elle pourrait devenir au cours des quinze prochaines années.

---

[5] *Voir chapitre 4.1*

[6] *= 18/3688*

[7] *Avis du Comité Interministériel sur les ESST du 2 février 2001 ; UE Scientific Steering Committee, Opinion on pre-emptive risk assessment should BSE in small ruminants be found under domestic conditions (adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 8-9 February 2001)*

L'analyse détaillée de la transposition de cette analyse à la situation française doit prendre en compte différents aspects :

- pour ce qui concerne la situation du cheptel français, à la fois le nombre et le devenir des ovins importés du Royaume Uni, et les modes alimentaires comparés des différents pays,
- pour ce qui concerne les consommateurs, à la fois les donnés de l'item précédent et les consommations de moutons britanniques : comme détaillé au § 8.1, 30% de la consommation ovine française provient du Royaume Uni (hors période d'embargo lié à la fièvre aphteuse).

Le Comité n'a néanmoins pu à ce jour conduire complètement cette analyse, dont il souligne qu'elle demande des investigations spécifiques, les données n'étant pas complètement disponibles. La différence d'exposition des petits ruminants entre la France et le Royaume Uni est néanmoins très probable Ainsi dans l'hypothèse de la présence de la souche ESB chez les petits ruminants, le niveau de consommation de produits d'origine britanniques, par rapport aux produits d'origine française, pourrait en faire la source la plus importante d'exposition des consommateurs français.

1.2 la tremblante

Le Comité considère qu'aucune donnée nouvelle ne permet de suspecter une transmissibilité à l'homme de l'agent de la tremblante à un niveau détectable dans les conditions d'exposition naturelle, comprenant la voie alimentaire. Le Comité préparera une analyse bibliographique détaillée des données disponibles dans ce domaine.

2- ANALYSE DES BASES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES, DES INTERETS ET LIMITES DES MESURES ACTUELLES DE PROTECTION DU CONSOMMATEUR DANS L'HYPOTHESE DE LA PRESENCE DE L'ESB CHEZ LES PETITS RUMINANTS

Les avis scientifiques relatifs aux petits ruminants émis par le CIM[8] puis le CES[9] visent à donner les bases pour limiter l'exposition des consommateurs à des niveaux élevés de contamination par des agents des ESST des petits ruminants, mais ne permettent pas de garantir l'absence d'un niveau résiduel d'exposition. Ces avis ont été justifiés par l'éventualité d'une ESB chez les petits ruminants, tout en notifiant que ces mesures seraient insuffisantes chez des petits ruminants atteints d'ESB avérée. Ces propositions ont été fondées sur les connaissances et outils disponibles au moment de leur rédaction. Les lignes suivantes décrivent les points positifs et les points faibles du dispositif actuel, en se fondant sur l'approche suivante, que le Comité continuera à retenir pour l'analyse de risque du § 2.1 :

- Les tissus dans lesquels une infectiosité ou l'accumulation de PrPres ont été constatés par des méthodes conventionnelles (inoculation à la souris, immunohistochimie, western-blot, ELISA) sont considérés comme des tissus à risque potentiel pour l'homme. Bien qu'il soit en principe possible, au sein de ceux-ci, de définir des tissus à risque plus ou moins élevé en fonction du titre infectieux, le Comité considère qu'il ne lui est pas possible de retenir une démarche conduisant, par une quantification peu précise en raison de la méconnaissance de nombreux paramètres, à rendre acceptable la consommation de certains de ces tissus.
- Les tissus dans lesquels l'accumulation de PrPres aurait été constatée par certaines méthodes analytiques dont la sensibilité pourrait conduire à la détection de doses sans signification au plan biologique feront l'objet d'une analyse au cas par cas. Dans l'avenir, l'utilisation de techniques comme l'électrophorèse capillaire (Schmerr et al. 1999) ou la

---

[8] *Avis du Comité Interministériel sur les ESST du 2 février 2001*

[9] *Avis du Comité d'Experts Spécialisés sur les ESST du 1er Novembre 2001*

technique PMCA (cyclic amplification of protein misfolding) (Saborio et al. 2001) pourrait ainsi conduire à des résultats nécessitant une analyse spécifique.

- Les tissus dans lesquels aucune accumulation de PrPres ou d'infectivité n'a été détectée doivent être analysés au regard de la sensibilité analytique des méthodes mises en jeu et du nombre d'animaux impliqués dans les expérimentations par rapport à la variabilité biologique de l'essai. Ainsi, le Comité continuera de différencier les tissus dans lesquels i) il y a convergence entre les modèles de physiopathologie et les données expérimentales négatives de détection de l'infectiosité et de la PrPres, tissus pouvant être considérés comme sans risque identifiable ii) les tissus dans lesquels il y a discordance entre ces deux données : dans cette hypothèse, en cas de données expérimentales de sensibilité limitée, le Comité continuera à privilégier, à titre de précaution, dans ses recommandations, les extrapolations qu'il est possible de dériver de la physiopathologie de ces maladies, dans la logique des recommandations précédentes en matière de thymus et d'intestins chez les bovins[10].

2.1 Intérêt et limites du retrait des MRS pour assurer la salubrité des carcasses dans l'hypothèse de la présence de l'ESB chez les petits ruminants

Le tableau suivant indique les MRS définies actuellement en France et, à titre comparatif, celles définies au Royaume Uni.

[10] *Avis du CIM ESST du 30 Juin 1999*

Tableau 4 : Tissus considérés comme MRS en France et au Royaume Uni (données AFSSA)

	liste des MRS ovins en France AM 17 mars 1992 modifié par l'arrêté du 19 juillet 2001	**modes de traitement** (AM 30 décembre 1991	**recommandation (non appliquée) de l'Afssa**	**MRS Royaume-Uni** Statutory instrument 1997 N° 2964	**mesures particulières appliquées lors d'importations**
tous les animaux	Tête entière, comprenant les yeux et les amygdales mais à l'exclusion de l'encéphale, de la langue et des masséters des ovins et caprins âgés **de plus de 6 mois ;**	Incinération	intestins (avis du 14/02/01)	Tête comprenant le crâne, l'encéphale et les yeux des ovins et caprins âgés **de plus de 12 mois ;** ou ayant une incisive définitive percée ;	Royaume –Uni : Tête entière, comprenant l'encéphale, les yeux et les amygdales, mais à l'exclusion de la langue et des masséters, des ovins et caprins nés ou élevés au RU ;
	Tête entière, comprenant l'encéphale, les yeux et les amygdales, mais à l'exclusion de la langue et des masséters, des ovins et caprins âgés **de 6 mois et plus ;**			Amygdales d'ovins et caprins âgés **de plus de 12 mois** ou ayant une incisive définitive percée	
	Rate des ovins et caprins **quel que soit leur âge** ;			Rate des ovins et caprins **quel que soit l'âge**	
	Moelle épinière des ovins et caprins âgés **de 12 mois et plus**, et à compter du 1er janvier 2002, la moelle épinière des ovins et caprins âgés de **6 mois et plus ;**			Moelle épinière d'ovins et caprins âgés **de plus de 12 mois** ou ayant une incisive définitive percée	

Police sanitaire	Tête entière, la moelle épinière ainsi que les viscères thoraciques et abdominaux des ovins et caprins abattus dans le cadre des dispositions de l'arrêté du 28 mars 1997 fixant les mesures de police sanitaire relative à la tremblante ovine et caprine ;			Seuls les animaux malades sont détruits, les autres entrent dans le schéma général des MRS	Règlement 999/2001 annexe VIII chapitre A, relatif aux conditions s'appliquant aux échanges d'ovins et de caprins : les animaux doivent provenir d'une exploitation indemne de tremblante depuis trois ans au mois

Les données disponibles sur la distribution de l'infectiosité ou de la PrPres dans les organes périphériques de moutons infectés expérimentalement par l'agent de l'ESB indiquent une distribution aussi large et aussi précoce que dans la tremblante (Foster et al. 2001a; Foster et al. 2001b, Bellworthy, résultats non publiés).

Pour mémoire, chez les moutons et les chèvres atteintes de tremblante au stade clinique de la maladie, les titres infectieux mis en évidence par inoculation intracérébrale à la souris sont de l'ordre de[11] :

- 5.1 à 6.5 logs DI[12] ou DL_{50}[13] voie intracérébrale souris/g pour l'encéphale et la moelle épinière
- 4.2 à 4.8 logs DI ou DL_{50} voie intracérébrale souris/g pour les amygdales, la rate, les ganglions lymphatiques, le colon proximal
- 2.2 à 3 logs DI ou DL_{50} voie intracérébrale souris/g pour le thymus, le colon distal, le nerf sciatique
- indétectables (< 1 à 2 logs DI ou DL_{50} voie intracérébrale souris/g) pour la moelle osseuse, le poumon, le foie, le muscle strié, le sérum, le caillot sanguin.

Pour ce qui concerne les moutons expérimentalement infectés par l'ESB les données disponibles, rappelées dans un avis récent du Comité[14], ne suggèrent pas de dissémination plus limitée dans l'organisme. Au contraire, les données disponibles sur la période d'incubation des souris inoculées avec le cerveau ou la rate de moutons ARQ/ARQ infectés expérimentalement avec 5 g de cerveau ESB bovin suggèrent des niveaux d'infectiosité semblables dans les deux types d'organes (de l'ordre de 5.1 logs/g, données non publiées), au contraire de ce qui est observé dans la tremblante du mouton ou l'infectiosité du système réticulo-histiocytaire est généralement inférieure de 10 à 100 fois à celle de l'encéphale.

Par ailleurs, l'analyse expérimentale de la physiopathologie de l'infection par voie alimentaire dans un modèle murin (Maignien, 1999) montre une propagation de l'agent infectieux des formations lymphoides associées au tube digestif (Plaques de Peyer, ganglions mésentériques)

---

[11] *compilation SEAC 1994*

[12] *Doses infectieuses*

[13] *Doses léthales 50%*

[14] *avis du 1[er] novembre 2001 portant sur la police sanitaire dans les cheptels atteints*

vers la rate et les autres ganglions lymphatiques. Ceci implique une phase de circulation précoce de l'agent infectieux par voie sanguine dans l'ensemble de l'organisme. Enfin, la présence de PrPres a été montrée dans le système nerveux périphérique (système nerveux entérique, voies sensitives et motrices du nerf vague et du système orthosympathique) chez le hamster infecté par la souche 263 K (Beekes 2001).

Ainsi le Comité considère que le retrait des MRS tels que définis par la réglementation actuelle, qui prend en compte pour certains tissus des limites d'âge :

- retire du marché certains des organes où le titre infectieux est le plus élevé : encéphale, moelle épinière, yeux, amygdales,
- laisse autorisé pour la consommation :
    - o des organes ou tissus dont l'infectiosité peut être élevée (colonne vertébrale en raison de la présence résiduelle de la dure mère, de fragments de moelle épinière, des ganglions rachidiens) ou moyenne (intestins, placenta, utérus, ganglions lymphatiques, système nerveux entérique)
    - o tous les tissus, organes, ou morceaux de découpe dans lesquels aucune infectiosité ou PrPres n'a jamais été détectée en fonction des données actuelles mais dont l'infectiosité ne peut être écartée en raison de la présence de formations lymphoïdes et du risque d'infectiosité du sang .
        - ▪ Pour ce qui concerne la présence de formations lymphoïdes, une étude préliminaire vient d'être conduite portant uniquement sur des échantillons de gigots d'agneau (G. Bénard, données non publiées) : Le gigot d'agneau moyen pèse 2.3kg (n=10) quand il est présenté "raccourci". Dans cet ensemble n'est visible que le noeud lymphatique poplité. Le nœud ischiatique reste en effet associé avec la selle de gigot et le nœud lymphatique précrural est enlevé au parage. Aucun autre élément lymphoïde ou nerveux n'est identifiable macroscopiquement sans dissection fine, qui n'a pas été conduite. Le nœud lymphatique poplité a un poids moyen de 1.9 g (n=10, écart-type = 0.6) avec des extrêmes variant de de 0.9 à 2.6 g. Considérant une infectiosité d'environ 4.5 logs DI ic souris/g, un facteur de conversion d'environ 500 à 1000 pour tenir compte de la barrière d'espèce murine, un facteur d'environ 5-6 logs pour la sensibilité voie intracérébrale/voie orale (§ 2.2.b), un ganglion de 1.9 g pourrait contenir de 30 à 600 doses infectieuses par voie orale chez l'homme, dans l'hypothèse d'une absence de barrière d'espèce entre l'homme et les ruminants pour la souche d'ESB, en l'absence de données quantifiant l'existence d'une éventuelle barrière d'espèce[15].
        - ▪ Le cas du sang est traité plus spécifiquement dans l'analyse de la question connexe de l'infectiosité potentielle des produits laitiers.

Le Comité considère donc que chez un petit ruminant qui serait atteint par l'agent de l'ESB, le retrait des MRS tels que défini par la réglementation actuelle, même complété du retrait des vertèbres et des intestins, voire des viscères thoraciques et abdominaux, laisserait subsister sur le marché des denrées dont l'absence d'infectiosité pour l'homme ne pourrait être garantie. En conséquence le Comité anticipe que, dans cette hypothèse, il ne pourrait suggérer aucun système de sécurisation centré sur le seul retrait de MRS, approche qui ne serait pas de nature à offrir le même niveau de garantie que chez les bovins.

---

[15] *Oral exposure of Humans to the BSE agent : infective dose and species barrier adopted by the SSC at its meeting of 13-14 April 2000*

2.2 Evaluation de la sécurité des produits laitiers dans l'hypothèse de la présence de l'ESB chez les petits ruminants

En raison de l'infectiosité beaucoup plus importante des formations lymphoïdes dans les ESST des petits ruminants (tremblante et ESB) que dans l'ESB bovine (§ 2.1), il est apparu souhaitable d'élargir l'analyse du risque chez les petits ruminants aux produits dérivés du lait. Ce chapitre aborde donc différents éléments d'analyse de ce risque, depuis les données expérimentales, actuellement très limitées, jusqu'aux extrapolations qu'il est possible de dériver des données connues de physiopathologie dans différents modèles impliquant également largement les tissus lymphoïdes.

a) Données épidémiologiques et expérimentales

Les expériences de transmission orale ou intracérébrale à la souris à partir de lait provenant de bovins atteints d'ESB (Taylor et al. 1995 ; Middleton & Barlow 1993) ou de petits ruminants atteints de tremblante (Hourrigan et al 19990)(Hadlow et al. 1980b)(Pattison & Millson 1961) ont donné des résultats négatifs. Ces expérimentations doivent être analysées au regard du volume inoculable d'échantillon par voie intracérébrale, qui limite le seuil de détection à un niveau de l'ordre de 10 à 100 DI par voie intracérébrale chez la souris/ mL.

Mise à part l'unique description de la présence d'infectiosité dans le colostrum d'une femme japonaise atteinte de MCJ sporadique (Tamai et al. 1992), l'infectiosité du lait chez un individu/animal atteint ou en incubation d'ESST n'a jamais été rapportée. Au contraire, aucun cas de transmission par le lait n'a été rapporté, en particulier chez des enfants papous allaités par des femmes en phase clinique de kuru, et qui n'avaient pas eux mêmes participé à un festin contaminant .

Enfin les données relatives à la transmission par le lait dans les conditions naturelles de tremblante ne peuvent pas être analysées isolément d'autres facteurs de contamination (voir § 1.1.b.2)

b) Analyse de risque

En raison de la faiblesse des données expérimentales et de l'implication large des tissus lymphoïdes dans les ESST des petits ruminants, le Comité a souhaité évaluer l'impact qu'aurait une faible infectiosité du sang sur la salubrité des produits laitiers.

Cette analyse correspond à une situation où :

i) l'ESB serait présente dans certains cheptels laitiers : le scénario n'inclut pas d'hypothèses sur le nombre de cheptels atteints et ne considère que le cas de produits dérivés de ces éventuels cheptels atteints d'ESB,

ii) le sang serait infectieux chez des petits ruminants atteints d'ESB : ce scénario prend en compte deux hypothèses de niveau d'infectiosité possible, l'une correspondant à une valeur maximale dérivée de modèles de rongeurs (scénario maximaliste[16]), l'autre correspondant à une valeur minimale très faible dérivée des rares informations disponibles en matière d'ESB ovine expérimentale.

Les résultats correspondants doivent donc être lus comme résultant de l'application de ces hypothèses, et n'ont de valeur que si elles se révélaient fondées. Les différents hypothèses ou paramètres pris en compte ont donc été les suivants :

---

[16] *Les valeurs maximales d'infectiosité définies dans ce scénario sont également celles qui ont été retenues pour l'analyse du risque du v-CJD concernant les médicaments dérivés du sang (Analyse du risque de transmission de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt Jakob par le sang et ses dérivés, AFSSAPS, 7 décembre 2000)*

Infectiosité du sang (hypothèse de travail)

Dans le sang, des titres infectieux maximaux de 100 DI voie intracérébrale souris /mL (buffy coat) et 20 DI voie intracérébrale souris /mL (plasma) ont été rapportés dans un modèle murin de Gerstmann-Straüssler-Scheinker (Brown et al. 1999). Dans l'expérience de Houston et al (2000) chez le mouton , la durée d'incubation chez le seul receveur atteint, par comparaison à celle d'animaux ayant reçu des doses connues de matériel infectieux, suggère une infectiosité maximale de 10 DI voie intracérébrale souris pour 400 mL de sang soit$10^{-1.6}$(0.025) DI voie intracérébrale souris/mL[17]. Deux scénarios ont donc été construits avec les valeurs extrêmes suivantes, en négligeant l'infectiosité du plasma :

Scénario maximal : 10^2 DI voie intracérébrale souris /mL

Scénario minimal : $10^{-1.6}$ DI voie intracérébrale souris /mL

Le scénario maximal est ainsi fondé sur des données issues d'un modèle expérimental qui ne représente pas nécessairement la situation possible chez le mouton ou la chèvre.

Infectiosité du lait (hypothèse de travail)

Les cellules circulantes potentiellement vectrices d'infectiosité, soit parce qu'elles multiplient l'agent, soit parce qu'elles en assurent le transport, sont les monocytes/macrophages (revue dans Mabbott & Bruce 2001)(Manuelidis et al. 2000), les cellules dendritiques (Huang et al. 2001) (Aucouturier et al. 2001) et, peut-être, les lymphocytes B (Shlomchik et al. 2001) (Montrasio et al. 2001). Il a été considéré que le ratio des leucocytes du lait sur leucocytes du sang représentait une valeur approximative du ratio d'infectiosité du lait par rapport au sang :

Scénario maximal :	leucocytes/mL sang 10^7	leucocytes/mL de lait : 10^7
Scénario minimal :	leucocytes/mL sang 10^7	leucocytes/mL de lait : 10^5

L'infectiosité du lait peut alors être estimée dans le scénario maximal à équivalente de celle du sang (100 DI ic souris/mL) et, dans le scénario minimal, à très inférieure à celle-ci ($10^{-3.6}$ (0.00025)DI ic souris/mL).

Ce calcul montre que la plus large part de cette gamme d'infectiosité théorique serait indétectable par les techniques d'inoculation à la souris, ce qui est compatible avec les données expérimentales.

Exposition des consommateurs (paramètres connus avec une marge d'incertitude intégrée dans les calculs)

L'exposition des consommateurs au lait serait liée quasi-exclusivement à la consommation de fromages. Différents paramètres ou hypothèses ont été utilisés :

- la plus grande sensibilité par voie intracérébrale de l'homme (elle même considérée comme équivalente à la sensibilité des bovins, voir § 2.1) par rapport à la souris (de 500 à 1000 fois)
- la moins grande sensibilité par voie orale que par voie intracérébrale (de 10^5 à 10^6)
- la quantité de lait nécessaire à la fabrication de 100 g de fromage (de 250 à 1300 mL)
- la prévalence des animaux atteints (de 1% à 10%), pour prendre en compte la dilution du lait des animaux atteints au sein du mélange des laits de récolte,

Dans ces conditions de calcul les résultats sont les suivants, pour ce qui concerne les fromages issus du lait d'une exploitation atteinte :

[17] *Cette valeur résulte d'informations additionnelles non publiées fournies au groupe ad-hoc TSE du CSD.*

Tableau 5 : Analyse théorique de l'exposition des consommateurs à la consommation de fromages issus d'une exploitation atteinte par l'ESB

	scénario maximaliste	scénario minimaliste
Calcul de l'infectiosité potentielle en équivalent-doses infectieuses par voie intracérébrale/homme pour 100 g de fromage issus d'un cheptel atteint		
leucocytes par ml de sang (log) (A)	7	7
leucocytes par ml de lait (log) (B)	7	5
Ratio leucocytes lait/sang (log) (C=B-A)	0	-2
infectiosité dans le sang (log/ml DI ic souris) (D)	2	-1,6
infectiosité dans le lait (log/ml DI ic souris) (E=D+C)	2	-3,6
Log taux d'animaux infectés parmi ceux en lactation (F)	-1	-2
infectiosité dans le lait de tank (log/ml DI ic souris) G=E+F	1	-5,6
quantité de lait pour 100 g de fromage (ml)	1300	250
quantité de lait pour 100 g de fromage (log ml) (H)	3,11	2,40
log DI ic souris pour 100g de fromage (I=G+H)	4,11	-3,20
DI ic souris pour 100g de fromage ($J=10^I$)	13000	0.00006
ratio DI ic bovin/ic souris (K)	1000	500
DI ic bovin pour 100g de fromage (L=JxK)	13000000	0,31
Calcul de l'infectiosité potentielle en équivalent-doses infectieuses par voie orale/homme pour 100 g de fromages issus d'un cheptel atteint		
ratio ic/oral (log) (M)	5	6
DI oral bovin pour 100g de fromage (log) (N=log(L)-M)	2,11	-6,50
doses infectieuses par voie orale pour l'homme associées à 100 g de fromage ($O=10^N$)	130	$3\ 10^{-7}$

Le Comité attire l'attention sur le fait que ces calculs n'ont pas la valeur d'une publication scientifique et doivent donc être considérés comme des hypothèses de travail, en l'absence d'analyse de risque publiée. L'exposition globale de la population n'a pas été estimée car les données pour le calcul ne sont pas disponibles. Néanmoins, en restreignant l'analyse au cas éventuel d'exploitations atteintes d'ESB, le calcul montre donc que les prévisions d'exposition au travers des produits laitiers, dans des hypothèses « haute » et « basse » de l'infectiosité du sang, et dans l'hypothèse d'une absence de barrière d'espèce ruminants/homme pour la souche d'ESB, varieraient de quasi-certaine à proches de zéro. Bien évidemment, en l'absence d'infectiosité du sang, ce risque tendrait également vers zéro. Le Comité attire l'attention sur le fait que des doses théoriques résiduelles inférieures à 1 ne signifient pas une absence d'infection possible. En effet, le mécanisme de production du fromage n'implique aucune partition effective : ainsi, compte tenu des caractéristiques d'aggrégabilité de l'agent, et du fait qu'il reste possible qu'une dose égale à 1 ne soit pas « divisible », une dose théorique de 10^{-x} peut signifier qu'une dose potentiellement contaminante pourrait être présente pour chaque part de 100 g de fromage tous les 10^x parts. Ce type d'analyse devrait être complété par un travail de recherche spécifique prenant en compte des variables additionnelles comme l'origine et la circulation des cellules lymphoïdes entre le compartiment sanguin et les tissus périphériques chez les ruminants.

Au stade actuel de l'analyse, il apparaît donc une très forte marge d'incertitude sur l'infectiosité potentielle des produits laitiers issus de cheptels atteints. Ainsi, dans l'hypothèse où l'ESB existerait dans des troupeaux, il apparaît que le Comité, dans l'état actuel des données disponibles, ne pourrait ni confirmer, ni exclure, une participation à l'exposition humaine liée aux produits laitiers dérivés de ces troupeaux. En conséquence le Comité anticipe que, dans l' hypothèse où des garanties scientifiques de salubrité de ces produits laitiers lui seraient demandées, il ne pourrait pas assimiler la sécurité des produits laitiers de petits ruminants à celle des bovins.

2.3. Evaluation de la capacité du dispositif actuel à identifier des cheptels indemnes d'ESST

Le dispositif actuel est fondé sur la déclaration obligatoire des suspicions de tremblante. Récemment, une évaluation de l'exhaustivité des cas recensés a été conduite et démontre une sous notification importante des cas. Cette sous notification est également connue dans d'autres pays. Les données disponibles sont résumées au § 4.1. Par nature, comme l'a montré l'expérience de l'ESB chez les bovins, un réseau uniquement fondé sur des critères de maladie cliniquement exprimée n'est pas capable de permettre une exhaustivité du recensement, en particulier en raison du caractère frustre des symptômes en début d'évolution clinique.

Le point 4 de cet avis identifie les conditions dans lesquelles des troupeaux pourraient offrir des garanties satisfaisantes, permettant de les considérer à risque marginal d'être atteints par une ESST. Ces conditions nécessitent par nature des délais longs (plusieurs années) avant qu'un résultat fiable ne soit acquis, et ne seraient donc pas immédiatement opérationnelles, ce qui justifie que leur mise en place ait été anticipée s'il devait s'avérer nécessaire de recourir à cette approche.

Ainsi, le Comité anticipe qu'il ne pourrait, en cas de besoin et dans l'état actuel des outils disponibles, suggérer aucune méthode rapidement opérationnelle permettant d'identifier de manière fiable des cheptels indemnes, à partir desquels des denrées alimentaires sans risque identifiable pourraient être issues et des échanges d'animaux opérés.

2.4 Evaluation des outils actuellement disponibles pour délivrer une garantie individuelle de salubrité des produits ovins ou caprins dans l'hypothèse de la présence de l'ESB chez les petits ruminants

Comme développé au § 6 de cet avis, seuls des tests dont la sensibilité aurait été validée pour leur utilisation sur des tissus périphériques pourraient fournir des garanties individuelles pour des carcasses testées indépendamment de toute connaissance fiable du statut du troupeau d'origine. Ces tests ne sont actuellement pas disponibles mais il existe des présomptions raisonnables qu'ils puissent l'être dans un délai proche (§ 6). Leur sensibilité analytique devra néanmoins être validée pour leur capacité à écarter de la consommation humaine des carcasses à risque infectieux pour le consommateur. A ce stade, il n'est donc pas possible de confirmer si, dans l'hypothèse de la présence de la souche d'ESB chez les petits ruminants, un résultat négatif pourrait offrir une garantie individuelle satisfaisante de salubrité des carcasses, en l'absence d'information sur le statut du cheptel d'origine.

En ce qui concerne le lait, aucun test n'est disponible ou prévisible pour attester de la salubrité du lait ou de produits laitiers, si ceux ci devaient présenter un risque dont la maîtrise soit nécessaire, indépendamment de la connaissance du statut du cheptel d'origine.

Ainsi, dans l'espèce bovine, la stratégie de retrait des MRS, complétée depuis peu par l'usage de tests écartant les animaux à forte infectiosité dans le système nerveux central, permet de garantir que chaque carcasse est salubre avec une marge d'erreur résiduelle faible dans l'état actuel des connaissances et sous réserve de bonne application. L'infectiosité du lait n'est ni démontrée, ni prévisible. A l'inverse, en cas de contamination des petits ruminants par l'agent de l'ESB, le degré d'exposition des consommateurs pourrait n'être calculable avec les outils disponibles qu'au plan statistique, avec une marge d'erreur élevée fonction des inconnues ou

imprécisions sur les données de base, et la garantie d'un degré d'exposition minimal, compte tenu des données scientifiques connues, ne pourrait être offerte aux consommateurs

3- DES AVANCEES SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES OUVRENT LA POSSIBILITE DE FAIRE EVOLUER LE PRINCIPE DES MESURES ACTUELLEMENT EN PLACE

3.1- Performances des tests rapides de détection de la PrPres chez les petits ruminants

a) Données dérivées de l'utilisation des tests rapides pour le diagnostic post-mortem de l'ESB chez les bovins.

A ce jour, trois tests rapides ont été validés par la commission européenne pour le diagnostic post-mortem de l'ESB chez les bovins. Il s'agit d'un test de western-blot (Prionics) et de deux tests de type ELISA (Enfer et Bio-rad). Au cours de l'évaluation européenne, qui s'est déroulée au mois de Mai 1999, ces trois tests ont démontré une excellente capacité à détecter spécifiquement des animaux infectés au stade clinique de la maladie parmi une importante série d'animaux sains (sensibilité $\geq$ 99%, spécificité $\geq$ 99.7%, p = 0.05) (Moynagh & Schimmel 1999). Sur une série de dilutions préparée à partir d'un pool de cerveaux provenant d'animaux au stade clinique de la maladie, les différents tests ont fait preuve d'une sensibilité analytique variable, le test français CEA (aujourd'hui Bio-rad) s'est avéré le plus sensible analytiquement (limite de détection : dilution 1/300) devant le test irlandais Enfer (limite de détection : dilution 1/30) et le test suisse Prionics (limite de détection : dilution 1/10) (Moynagh & Schimmel 1999). Le test le plus sensible analytiquement s'est révélé avoir une sensibilité au moins égale au test de référence par infection expérimentale de la souris (Deslys et al. 2001). Il s'est avéré également capable de détecter tous les échantillons retrouvés positifs par d'autres méthodes (immunohistochimie, histologie, détection de SAF -Scrapie Associated Fibrils-, bioessai chez la souris) avant l'apparition des signes cliniques sur des bovins infectés expérimentalement par l'agent de l'ESB (Grassi et al. 2001). Néanmoins, en l'absence de test de référence pertinent, aucune donnée n'est disponible sur la sensibilité (proportion d'animaux infectés identifiés) en conditions de dépistage de masse.

L'utilisation de ces tests à grande échelle a permis de détecter de nombreux animaux soit dans le cadre d'études épidémiologiques portant sur le suivi de populations à risque (Schaller et al. 1999) (Oesch et al. 2000) (Calavas et al. 2001) soit lors du dépistage systématique à l'abattoir. Ainsi, en 2001 en France, à la date du 12/12/2001, sur 251 cas d'ESB confirmés 164 ont été identifiés par les tests rapides (73 pour les tests systématiques chez les animaux de 30 mois et plus, et 91 pour le dépistage actif) contre 87 cas identifiés par le réseau d'épidémiosurveillance passive. Enfin ces tests ont amené à changer la date de dépistage (passage de 30 à 24 mois) à la suite de la découverte de deux bovins de 28 mois positifs sans signes cliniques en Allemagne.

b) Application des tests rapides au diagnostic des ESST chez les petits ruminants.

En l'absence d'articles publiés dans des revues à comité de lecture, décrivant les performances des trois tests rapides appliqués au diagnostic des ESST chez les petits ruminants, les seules données en notre possession sont celles fournies par les industriels [18]. Compte tenu de la grande homologie de séquence existant entre la PrP bovine et les PrP des petits ruminants, il semble probable que les différents anticorps utilisés pour la détection de la PrP bovine soient également utilisables pour la détection de la PrP ovine. Les données fournies par les industriels suggèrent fortement, sous réserve d'une validation sur le terrain, que les tests utilisés couramment pour le diagnostic post-mortem de l'ESB sont transposables au diagnostic post mortem des ESST chez les petits ruminants si l'analyse est effectuée sur un échantillon de tissu nerveux central.

---

[18] *Audition des firmes AES et Biorad par le CES ESST le 24 octobre 2001 et dossiers fournis par les firmes*

Les résultats fournis par AES-Prionics concernent des analyses sur le système nerveux central de 12 moutons (9 cliniquement malades, trouvés positifs, et 3 sains, trouvés négatifs sans évaluation de la limite de détection).

Les résultats fournis par Biorad montrent que ce test est capable de détecter facilement la PrPres chez des moutons atteints de tremblante confirmée dans une importante série d'échantillons prélevés dans le cadre du réseau d'épidémiosurveillance français (125 échantillons positifs correspondant aux différents génotypes rencontrés sur le territoire). Les tests réalisés à des dilutions au 1/100 indiquent pour les ovins une sensibilité au moins équivalente à celle rapportée pour les bovins. Par ailleurs les tests ont permis d'identifier 25 échantillons, comme les tests de référence, contenant des quantités souvent importantes de PrPres (sur un prélèvement de tronc cérébral) chez des animaux qui n'avaient pas été identifiés cliniquement au sein d'un troupeau de 325 brebis abattues en raison de la prévalence de tremblante. Enfin, sur une série de 295 échantillons de tronc cérébral prélevés dans un abattoir, ce test n'a pas détecté un seul cas positif, ce qui correspond à une spécificité supérieure ou égale à 99% pour les prélèvements dont ces échantillons sont représentatifs.

D'autres résultats actuellement non publiés, auraient permis d'observer une détection précoce de PrPres par le test Biorad dans les tissus lymphoïdes (rate) chez le mouton (détection dans les plaques de Peyer 2 mois après la naissance en même temps que les marquages immunohistochimiques chez des animaux de génotype très sensible VRQ/VRQ, (Andreoletti et al. 2000)). Par ailleurs, il a été possible de détecter la PrPres, de façon comparable aux résultats obtenus dans les cas de tremblante naturelle, chez deux moutons ayant fait l'objet d'une transmission expérimentale de la maladie bovine qui ont pu être examinés à ce jour (données non publiées).

Les données préliminaires obtenues sur les organes lymphoïdes périphériques indiquent que la rate semble être le tissu lymphoïde dans lequel le diagnostic est le plus facilement réalisable (prélèvement et broyage aisés) et le plus constant. Chez l'un des deux moutons expérimentalement infectés par l'ESB étudiés, dont la rate a pu être examinée, la présence de PrPres a également été détectée dans cet organe. Une détection plus précoce semble possible par analyse des plaques de Peyer iléales mais il n'est pas acquis que ce tissu puisse être prélevé et analysé de façon rigoureuse dans des conditions de routine. Par ailleurs, il n'est pas exclu à ce stade que des résultats négatifs puissent être obtenus pour la rate d'animaux positifs pour un prélèvement d'encéphale, ce qui nécessitera d'étudier des règles d'utilisation et d'interprétation de ces tests en fonction des résultats de validation.

Il conviendrait d'étudier le plus rapidement possible, par exemple sur un panel d'échantillons judicieusement défini, les performances respectives des différents tests chez les petits ruminants. Enfin, il serait souhaitable qu'une telle évaluation soit étendue au niveau européen comme cela a été fait précédemment avec des échantillons de bovins.

3.2- bases génétiques de la résistance aux ESST chez les petits ruminants

La variabilité génétique de la sensibilité aux ESST des ovins est bien documentée. Des lignées ovines sélectionnées sur la durée d'incubation de la tremblante ont été mises en place en 1961 au Royaume Uni. L'étude de ces lignées a permis de montrer, dès 1968 (Dickinson et al. 1968), l'existence d'un déterminisme génétique mendélien (gène Sip, pour Scrapie Incubation Period avec deux allèles sA (short) et pA (prolonged)). La liaison génétique de ce gène Sip avec des marqueurs RFLP du gène de la PrP (glycoprotéine membranaire ubiquiste) ont été montré en 1989 (Hunter et al. 1989). L'identité de Sip et PrP a été formellement démontrée depuis par transgénèse. Quatorze allèles du gène PrP sont connus chez le mouton, correspondant à des variations en différents codons de ce gène. Parmi les différents allèles du gène, celui qui code pour les acides aminés Alanine (A) au codon 136, Arginine (R) aux codons 154 et 171 confère une résistance à la tremblante : cet allèle est codifié ARR. Sur la base de milliers d'observations de cas cliniques réalisées dans tous les pays confrontés à la tremblante, les ovins dont les deux copies du gène sont de type ARR (moutons homozygotes ARR/ARR) sont entièrement résistants à la tremblante, alors que les hétérozygotes ARR sont très rarement cliniquement

atteints (Hunter 2000) pour une revue). A titre d'exemple, une étude épidémiologique menée à l'échelle européenne n'a permis de détecter aucun ARR/ARR parmi 1587 cas de tremblante confirmées par histopathologie, cependant que ce génotype représentait 15,5 % de la population de 9141 témoins (rapport annuel n°3 du projet CT973305 de la commission Européenne (DGVI)). Le seul cas de mouton ARR/ARR tremblant rapporté à ce jour est celui d'un Suffolk japonais (Ikeda et al. 1995). A l'opposé, l'allèle qui code pour Valine en 136, Arginine en 154 et Glutamine en 171 (allèle codifié VRQ) confère une grande sensibilité à la tremblante : dans l'étude européenne, les animaux VRQ/VRQ représentaient 13,7 % des tremblants et 0,6% des témoins.

Par ailleurs, les résultats des expériences d'inoculation des ovins avec un isolat d'ESB ne suggèrent pas un spectre de résistance génétique lié à l'allèle ARR différent pour la souche ESB par rapport aux isolats de tremblante ; en revanche, concernant l'influence du codon 136 (A ou V) sur le degré de sensibilité, l'ESB semble se comporter différemment de la tremblante. Aucun des animaux ARR/ARR inoculés par des isolats d'ESB n'ont déclaré une ESST ni accumulé de PrPres en quantités détectables ((Goldmann et al. 1994) (Foster et al. 2001a), (Jeffrey et al. 2001)). Cependant, le faible nombre d'animaux ARR/ARR impliqués dans ces expérimentations et la durée d'observation limitée après inoculation laissent demeurer une marge d'incertitude sur la notion de résistance " absolue " de ce génotype vis-à-vis de l'ESB.

Le portage asymptomatique d'une souche d'ESST, par des ovins génétiquement résistants, n'a pas été démontré. Lors d'exposition naturelle à la tremblante, la recherche de PrPres est négative sur les ovins ARR/ARR de tous âges, et en particulier sur des ovins plus âgés que ce qui est observé habituellement en troupeaux commerciaux. L'inoculation expérimentale à des ovins ARR/ARR de souches d'ESB ou de tremblante, par voie orale ou intra cérébrale n'a pas permis d'obtenir de symptômes (Goldmann et al. 1994) (Jeffrey et al. 2001). De plus, les résultats publiés sur l'inoculation orale d'ESB à des ovins ARR/ARR rapportent l'absence de PrPres tissulaire jusqu'à 24 mois post inoculation (Jeffrey et al. 2001).

4- L'EPIDEMIOLOGIE DES ESST CHEZ LES PETITS RUMINANTS OUVRE LA POSSIBILITE DE MESURES BASEES A TERME SUR L'IDENTIFICATION DE CHEPTELS DE STATUT CONNU COMME SOURCE DE DENREES ALIMENTAIRES

4.1- Epidémiologie descriptive des ESST chez les petits ruminants comme base d'échantillonnage

A l'heure actuelle, la proportion de troupeaux ovins et caprins atteints de tremblante en France est approchée par le réseau de surveillance clinique mis en œuvre en 1996. Depuis cette date, la tremblante a été dépistée (au 01/10/01) dans 282 troupeaux ovins et quatre troupeaux caprins et, compte tenu des abattages de troupeaux mis en œuvre dans certains cas, la prévalence actuelle dépistée est de 168 troupeaux ovins et 0 troupeau caprin sur la base des critères de suivi des troupeaux atteints. En France, les données de l'année 2000 recensent 95 665 exploitations ovines et 27 286 exploitations caprines. Aussi, sur les bases de la surveillance clinique actuelle, le taux d'incidence cumulée entre le 14/06/96 et le 01/10/01 est environ de trois troupeaux ovins sur mille, et deux troupeaux caprins sur dix mille. Néanmoins, il est très hautement vraisemblable que cette prévalence est sous-estimée[19], mais il n'est pas possible de quantifier actuellement cette sous-identification de cas en France.

Deux études réalisées à l'étranger amènent quelques indications sur le pourcentage de cheptels atteints. Une étude publiée en 1993 a été conduite aux Pays Bas (Schreuder et al. 1993) pour estimer la prévalence de la maladie, sous la forme d'une enquête postale auprès de 700 éleveurs ovins (265 retournés) et d'interviews auprès de 137 éleveurs. Dans ces deux échantillons, 6% des éleveurs environ ont indiqué avoir déjà observé par le passé des cas de tremblante dans leur troupeau. Au Royaume uni (Hoinville et al. 2000), une enquête postale effectuée en 1999 auprès de plus de 6000 éleveurs ovins, sous couvert de l'anonymat, a montré

---

[19] *Rapport d'évaluation du fonctionnement du réseau tremblante, AFSSA et DGAL, octobre 2001*

que 5,3% des éleveurs estiment avoir eu des cas de tremblante dans leur troupeau dans les six années écoulées, et 2,4% dans l'année écoulée, ces chiffres étant huit fois supérieurs au nombre de cas déclarés aux autorités.

Malgré les précautions prises dans ces études pour définir ce qu'est la tremblante, il est probable que l'opinion des éleveurs sur ce qu'il considèrent ou non comme des cas de tremblante n'est ni très spécifique (certains troubles ne sont peut-être pas de la tremblante), ni très sensible (certains cas de tremblante peuvent ne pas avoir été repérés par les éleveurs, notamment dans les formes sporadiques de la maladie). Néanmoins, en l'absence d'informations plus précises actuellement, il paraît opportun de se baser sur ces études pour donner une fourchette estimée de prévalence de la tremblante en France. En faisant l'hypothèse maximaliste défavorable qu'actuellement le taux de sous-identification / sous déclaration des cas est de 90 %, par transposition à la France des données précédemment rappelées concernant le Royaume-Uni, un ordre de grandeur du pourcentage de cheptels atteints pourrait être de l'ordre de 3% pour les ovins. Toutefois, compte tenu de l'existence possible de cas sporadiques de maladie difficilement identifiables dans les troupeaux et donc non intégrés dans les résultats des études britannique et néerlandaise, le pourcentage de troupeaux ovins atteints pourrait être supérieur à cette estimation sans qu'il soit possible d'estimer dans quelle proportion. Chez les caprins, en l'absence de données sur le taux de sous-identification ou sous-déclaration, la proportion de cheptels atteints est encore plus difficilement estimable. En corollaire, il est hautement vraisemblable que la très grande majorité des cheptels français de petits ruminants sont indemnes de tremblante, ce qui est un atout pour l'identification de cheptels indemnes comme source de viande de petits ruminants et de produits laitiers.

Au sein des troupeaux atteints, le taux d'incidence annuelle de la maladie clinique est extrêmement variable, de l'ordre de 1% dans les formes sporadiques à plus de 10% dans les formes enzootiques. Dans ce contexte, et dans une optique de santé publique, le plan d'échantillonnage dans les troupeaux d'un programme de surveillance de la tremblante destiné à dépister les exploitations atteintes devrait être basé sur un taux d'incidence annuel très faible d'animaux détectables, de l'ordre de 1%, de manière à s'assurer de détecter les formes sporadiques de tremblante. Divers facteurs interviennent vraisemblablement pour expliquer le taux d'atteinte des troupeaux, au nombre desquels le degré de résistance génétique à la tremblante du troupeau, et les facteurs de diffusion de l'agent pathogène présents dans l'exploitation. Aussi, le plan d'échantillonnage pourrait-il dépendre dans l'absolu du degré de résistance génétique à la maladie au sein du troupeau.

4.2- Applicabilité des tests rapides à la qualification de cheptels

Le Comité estime que les limites des tests appliqués au système nerveux central décrites pour la qualification individuelle des denrées issues de petits ruminants ne sont pas un frein de même nature pour la qualification des cheptels. En effet, dans l'hypothèse où l'étude d'une fraction importante des brebis de réforme, de manière répétée dans le temps, ne montrerait une accumulation de PrPres dans le système nerveux central chez aucun animal, la probabilité qu'une infectiosité soit présente chez de jeunes animaux pourrait être considérée comme négligeable, en l'absence d'introduction d'animaux infectés et sous la réserve de la maîtrise du risque alimentaire.

Actuellement le système de certification en place en France, issu des recommandations européennes, comprend l'analyse histopathologique annuelle de 1% des femelles des troupeaux, choisies parmi les animaux de réforme. En raison du faible taux de sondage, cette mesure, à elle seule, apporte peu de garanties quant à l'absence d'ESST dans ces troupeaux. En revanche, la réalisation systématique de tests sur les animaux de réforme, rendue techniquement envisageable avec les tests “ rapides ”, permettrait d'obtenir relativement rapidement un bon niveau de garantie. En effet, environ 15% des femelles sont réformées en moyenne chaque année en élevage ovin, et plus de 20% en élevage caprin. De plus, le niveau de garantie augmenterait rapidement avec la répétition des tests chaque année.

Le Comité considère donc que les bases techniques existent pour identifier à une échelle de temps de quelques années les cheptels offrant des garanties satisfaisantes d'absence d'ESST. Le Comité est prêt à analyser des dispositions détaillées permettant de qualifier de tels élevages.

4.3- Identification des cheptels soumis à police sanitaire

Dans un avis récent[20], le Comité a souligné que la mise en place d'un dispositif de police sanitaire renforcé dans les cheptels identifiés comme atteints de tremblante sur un plan symptomatologique et sur une base déclarative conduisait à un risque de sous-déclaration, proportionnel aux contraintes s'exerçant sur les élevages. Pour cette raison, le Comité estime que l'impact favorable de la mise en place des mesures de police sanitaire dans les élevages en matière de santé animale, et, le cas échéant, de santé publique, est tributaire d'un dépistage actif au travers de la mise en place de tests rapides sur un échantillon d'animaux appropriés des troupeaux. Les conditions d'échantillonnage permettant de qualifier des cheptels sont également applicables à l'identification des cheptels infectés.

4.4- Une connaissance du statut des cheptels sources permettrait l'allègement éventuel de la liste des MRS

Les risques qu'un petit ruminant soit atteint d'ESST est fonction de deux sources de contamination possibles :

- une contamination par voie alimentaire, pour laquelle une date d'absence probable de risque de contamination pourrait être définie en fonction des dispositions réglementaires, des contrôles de leur application, et des données issues de dépistage actif. En fonction du jeune âge auquel est abattue la très grande majorité des petits ruminants consommés, contrairement aux bovins, des données favorables pour les critères précités pourraient permettre une analyse de risque favorable effective peu de temps après leur démonstration,
- une contamination horizontale ou verticale (voir § 1), pour laquelle des garanties pourraient être apportées par la connaissance du statut du cheptel d'origine.

Il apparaît donc au Comité, qu'une éventuelle approche d'allégement de la liste des MRS chez les petits ruminants pourrait s'appuyer sur des garanties solides sur les troupeaux d'origine.

4.5- Prérequis

La qualification de troupeaux de petits ruminants indemnes d'ESST, et la mise en évidence des troupeaux atteints, rendent indispensable la mise en œuvre de l'identification individuelle des animaux, la traçabilité des échanges entre troupeaux et la maîtrise des échappements possibles de petits ruminants au dispositif de surveillance (par enfouissement de cadavres par exemple). En première analyse, et sous réserve d'une prise en compte de cas spécifiques, ces mesures impliquent de pouvoir contrôler strictement les échanges d'animaux entre troupeaux, et en particulier d'interdire toute sortie d'animaux de troupeaux atteints vers d'autres troupeaux, et toute entrée d'animaux provenant de troupeaux non qualifiés et a fortiori de troupeaux atteints dans des troupeaux qualifiés ou en cours de qualification.

5- La validation d'outils et la mise en place d'un reseau de typage de souches permettraient l'adaptation des mesures dans les cheptels atteints identifies au point 4

Les difficultés liées à la définition des mesures adéquates en matière d'ESST des petits ruminants sont étroitement liées à l'incertitude actuelle sur l'existence de la souche d'ESB dans ces espèces. Cette incertitude rend difficile aussi bien la définition des mesures de portée

---

[20] Avis du Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST du 1er novembre 01 sur le projet d'arrêté du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche modifiant l'arrêté du 28 mars 1997 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine et caprine

générale pour l'ensemble des populations animales concernées, que celles correspondant spécifiquement aux cheptels dans lesquels une ESST a été diagnostiquée. Ainsi, dans la mesure où différents outils sont actuellement disponibles, il apparaît urgent de les valider.

5.1- Identification des outils disponibles[21]

La caractérisation de souches d'ESST correspond à une méthodologie pour laquelle aucun standard n'est acquis. L'approche qui est actuellement la mieux établie correspond à l'inoculation de souris et la définition d'une typologie basée sur la période d'incubation et la distribution des lésions. Ainsi, différentes souches de tremblante ont été définies à partir d'isolats du terrain (Bruce 1996). Un exemple de différenciation d'une souche d'ESB ovine par rapport à une souche de tremblante après inoculation expérimentale au mouton est donné par le travail de Foster (Foster et al. 1996a). Dans cet exemple, des souris RIII, C57BL, VM, IM et C57BLxVM ont été utilisées, démontrant des différences considérables dans les temps d'incubation pour un même isolat entre les différentes lignées murines, et, de manière intéressante, au sein de certaines lignées entre cette souche ESB et cette souche de tremblante. Au plan anatomopathologique, les « profils lésionnels » entre souche ESB et cette souche de tremblante étaient notoirement différents chez la souris RIII (alors que cette lignée démontrait des temps d'incubation proches pour les deux souches : 300-400 jours).

La lourdeur de cette approche limite néanmoins son usage à un nombre limité d'isolats. Par ailleurs, récemment, des lignées transgéniques exprimant le gène de la PrP ovine ont été établies par certains laboratoires, en particulier en France, qui peuvent présenter certains avantages en terme de durée d'incubation ou de signature lésionnelle. De plus, certains laboratoires français ont développé ou adapté des méthodes de typage biochimique de la PrPres qui pourraient être utilisées comme un filtre initial permettant de n'engager les typages sur souris que sur un nombre limité d'isolats. Les lignes suivantes présentent un résumé des deux grands types d'outils actuellement disponibles et de leurs propriétés. Leur utilisation en matière d'analyse phénotypique des souches est discutée, en particulier en ce qui concerne la mise en évidence de marqueurs d'une souche ESB ovine.

Phénotype de la PrPres in vitro

Western-Blot : la mise en évidence d'une bande non glycosylée de plus faible poids moléculaire serait indicatrice d'une souche de type ESB. La valeur prédictive positive de ce marqueur est probablement faible (c'est à dire que des souches de tremblante classique pourraient posséder ce marqueur, bien que cela n'ait été jusqu'à présent rapporté que dans une seule souche de tremblante expérimentale ovine (CH1641, (Hope et al. 1999). Par contre, sa valeur prédictive négative serait élevée (un résultat négatif permettrait d'exclure une hypothèse de souche ESB, dans l'hypothèse où les animaux seraient infectés seulement par la souche d'ESB et sous réserve de résultats ultérieurs sur un spectre plus représentatif de moutons infectés par cette souche d'ESB).

ELISA : un test ELISA en cours de développement en France permettrait de mettre en évidence une signature biochimique comparable à celle du Western-Blot, avec les mêmes limites. Ce test, s'il était applicable à des échantillons de terrain dans un état de conservation souvent perfectible, serait d'un emploi plus aisé à large échelle que le Western-Blot.

En résumé, les tests de mise en évidence de la PrPres pourraient représenter un outil de tri efficace des souches de type ESB , sous réserve de leur validation.

Phénotype après inoculation aux souris

La description du phénotype d'une souche en passage primaire à la souris peut comprendre l'enregistrement de plusieurs paramètres : létalité, durée et homogénéité de l'incubation,

---

[21] Une partie de ce chapitre est issue d'un document de réponse à un appel d'offre de recherche et a fait l'objet de collaborations multiples en dehors du CES ESST

typologie des lésions histologiques, typologie des dépôts de PrPres. Chacun de ces critères, ou une combinaison d'entre eux, peut être utilisé pour décrire le phénotype d'une souche. Si l'on se focalise sur l'identification d'une souche ESB, certaines combinaisons souris/critère, apparaissent les plus pertinentes. En effet, les résultats obtenus dans différents laboratoires montrent que :

- La lignée RIII est la mieux caractérisée en ce qui concerne le profil lésionnel. Une souche d'ESB ovine expérimentale y révèle un profil particulier (Foster et al. 1996a). Néanmoins, la durée d'incubation est longue (environ 300-400 jours). C'est cependant la durée la plus courte des lignées conventionnelles, ce qui, outre l'homogénéité des lésions, justifie aussi son choix. Elle est néanmoins de plus en plus remplacée par la lignée C57B6, pour des raisons techniques, pour laquelle les profils lésionnels de la souche ESB et de plusieurs isolats de tremblante sont disponibles.
- La lignée INRA transgénique ovine (VRQ) Tg3 et ses dérivées (dont la lignée Tg338) possèdent une durée d'incubation relativement courte (2 à 8 mois; (Vilotte et al. 2001), qui est inférieure à la souris Tga20 pour les souches de tremblante (VRQ/VRQ, ARQ/ARQ OU VRQ/ARQ.), et longue (> 1 an), pour une souche d'ESB ovine (ARQ/ARQ)
- La lignée AFSSA transgénique ovine (ARQ) Tg4 montre la présence d'abondantes " plaques florides "(Crozet et al. 2001a) pour un isolat d'ESB expérimentale ovine (ARQ/ARQ) par rapport à des isolats de tremblante naturelle, issus du réseau de surveillance français, y compris d'origine ARQ/ARQ. Six isolats de tremblante naturelle ont pu être transmis à cette lignée, avec des délais d'incubation variables entre les isolats, et aussi parfois assez largement pour un même isolat. Des délais d'incubation de l'ordre de 200 à 300 jours sont les plus fréquents (Crozet et al. 2001b).
- La lignée Tga20, surexprimant le gène PrP murin, fournirait une durée d'incubation plus courte que chez les Tg338 pour les isolats d'ESB ovinisées, contrairement aux isolats de tremblante (H. Laude , résultats préliminaires). Par contre, la spécificité d'une signature lésionnelle de l'ESB par comparaison à la tremblante est incertaine et doit encore être vérifiée dans cette lignée.

Dans tous les cas, les informations correspondantes n'ont peut être pas de valeur générale, dans la mesure où relativement peu de souches de tremblante ont été étudiées et surtout, un seul isolat d'ESB ovine a été testé. De plus, seul un passage primaire bovin vers mouton a été utilisé, sans que l'on sache si de multiples passages chez le mouton modifieraient les données obtenues (il est néanmoins probable que les caractéristiques biologiques et biochimiques de cette souche restent stables, en référence aux données de transmission primaire et secondaires interspécifiques de la souche d'ESB, par exemple chez les primates (Lasmezas et al. 2001)). En conséquence, les outils disponibles permettront uniquement d'identifier un profil "ESB-like" chez les moutons, ce qui serait néanmoins utile pour l'analyse de risques. Le critère le plus solide d'identification d'une souche ESB ovine serait le suivant : typologie lésionnelle identique à la souche de référence (ESB ovine) sur souris RIII ou C57B6 et poids moléculaire apparent de la protéine prion résistante à la protéinase K indistinguable de celui attendu avec la souche d'ESB. Ce critère ne peut néanmoins pas être considéré comme définitif, en l'absence d'une validation complète sur un nombre suffisant de souches

5.2- Place des outils disponibles à court terme et perspectives

Les tests de typage sur souris ne peuvent pas être utilisés en routine compte tenu de leur lourdeur et leur longueur d'exécution.

A court et moyen terme, l'absence de validation de tests rapides de typage, en particulier quant à leur sensibilité et donc à leur valeur prédictive négative, conduisent à ne pas pouvoir conseiller l'utilisation de ces outils pour écarter qu'un cheptel soit atteint par la souche d'ESB. La spécificité, et donc la valeur prédictive d'un résultat positif (au sens des critères précédents) reste également non validée. Néanmoins des résultats positifs enregistrés avec ces tests, y

compris au cours de travaux de recherche, devraient être notifiés et conduire à une analyse spécifique. Ces validations, pour lesquelles l'ensemble du dispositif est défini depuis plusieurs mois, mériteraient donc être conduites rapidement mais ne donneront pas de résultats tangibles avant deux ans après leur initiation.

A moyen terme, en fonction des résultats des validations, ces tests pourraient :

- permettre d'identifier, au sein de troupeaux atteints par une ESST, d'éventuels troupeaux atteints d'ESB , et d'y conduire une action spécifique,
- être engagés dans des enquêtes à large échelle de manière à écarter (avec un niveau de certitude calculable en fonction de l'échantillonnage) ou confirmer la présence de l'ESB chez les petits ruminants et fournir les bases d'une réflexion sur les mesures générales qui seront en place à ce moment.

6- DES CONTROLES INDIVIDUELS PEUVENT FOURNIR DES GARANTIES ADDITIONNELLES POUR CERTAINES DENREES DE PETITS RUMINANTS ISSUS DES CHEPTELS DE STATUT INCONNU

6.1- Produits laitiers

Sous l'hypothèse de la circulation d'une souche d'ESB, en fonction des éléments développés au § 2.2, le Comité ne pourrait suggérer, dans l'état actuel des connaissances, aucune stratégie garantissant la salubrité des produits laitiers en l'absence de connaissance du statut des effectifs d'origine.

6.2- Carcasses

Les données concernant la pathogénie de la tremblante naturelle montrent clairement la relation étroite entre l'accumulation de la protéine prion pathologique dans les tissus périphériques et dans le système nerveux central, associée à l'infectiosité, et le génotype du mouton. L'accumulation de cette protéine prion pathologique est détectable plus précocement chez les moutons dont le génotype est connu pour accélérer le délai d'apparition de la maladie. Elle est plus tardive chez les animaux de génotype faiblement sensible. Pour les animaux de génotype résistant (ARR/ARR aux codons 136, 154 et 171 du gène prion) qui paraissent pouvoir résister entièrement dans les conditions de vie habituelle des animaux de rente, les données disponibles actuellement n'ont pas démontré la présence de cette protéine anormale ni dans les tissus périphériques, ni dans le système nerveux central. Ainsi, l'évaluation du risque potentiel représenté par la consommation des différents tissus et organes pourrait prendre en compte le statut génétique de l'animal.

Il doit néanmoins être souligné que les données disponibles concernant les relations entre le génotype de l'animal et l'infection chez les petits ruminants avec la souche d'ESB restent actuellement très limitées, bien qu'aucune donnée publiée ne soit contraire aux connaissances générales établies dans la tremblante naturelle[22].

D'une façon plus générale, la question d'un possible portage de l'agent infectieux chez les animaux génétiquement résistants, en particulier dans les tissus périphériques, doit également être envisagée.

Les tests rapides de détection de la protéine prion anormale peuvent offrir une garantie supplémentaire, dès lors que l'utilisation de tels tests est validée chez les petits ruminants. Néanmoins, dans ces espèces, l'absence de protéine anormale en quantité détectable dans le système nerveux central ne garantit pas son absence dans les tissus périphériques, qui est généralement plus précoce. La disponibilité de tests validés pour un diagnostic précoce et fiable dans les tissus périphériques est hautement souhaitable.

---

[22] Voir également : Avis du Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST du 1er novembre 01 sur le projet d'arrêté du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche modifiant l'arrêté du 28 mars 1997 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine et caprine

En résumé, le Comité considère que, sous réserve des prérequis du § 6.3, il pourrait être possible de définir, au plan scientifique, des conditions permettant de limiter les risques de contamination des carcasses par un agent des ESST. Leur degré d'efficacité sera directement fonction de la sensibilité analytique des tests appliqués aux tissus périphériques, qu'il sera possible d'évaluer plus précisément dès les résultats de validation disponibles. Néanmoins, s'agissant de mesures basées au moins en partie sur le contrôle individuel des animaux, le nombre de tests annuels à réaliser pour un même objectif de santé publique serait beaucoup plus important que pour la stratégie d'identification de cheptels qualifiés développée au chapitre 4. Par contre, cette mesure pourrait être appliquée dès lors que la réalisation des prérequis du § 6.3 seraient acquise, contrairement à la mesure de qualification des cheptels qui nécessite un recul plus long. Ainsi, ces deux types de mesures peuvent apparaître comme chronologiquement complémentaires.

6.3- Prérequis

Deux facteurs sont actuellement limitants :

- la disponibilité de tests applicables aux tissus périphériques : cette limite devrait pouvoir être levée à terme proche,

- l'absence de système d'identification des animaux géré au plan national, et incluant en particulier la date de naissance.

7- La mise en oeuvre de plans d'amelioration genetique representerait un axe majeur, mais retarde dans le temps, d'amelioration de la situation sanitaire

7.1- Principe des plans d'amélioration génétique

Les connaissances actuelles permettent d'envisager d'utiliser le polymorphisme du gène PrP pour améliorer la résistance des moutons à la tremblante (et probablement également à l'ESB) ainsi que l'absence de portage des populations ovines (voir par exemple (Dawson et al. 1998)). A noter que l'utilisation de béliers ARR/ARR donnerait très rapidement une protection importante des élevages puisque les hétérozygotes ARR sont très peu sensibles à la tremblante. Le « génotypage » des animaux pour leur gène PrP peut être organisé à grande échelle. Plusieurs techniques sont disponibles pour réaliser ce génotypage (Taqman, PCR-RFLP, séquençage systématique). En Europe, trois pays ont déjà organisé ce typage à un niveau national (Royaume Uni, France et Pays Bas) et les techniques sont disponibles dans la plupart des pays.

Au Royaume Uni et au Pays Bas, l'amélioration de la résistance à la tremblante des populations ovines est basée sur l'adhésion individuelle des éleveurs sélectionneurs à des programmes de qualification de reproducteurs et de cheptel (National scrapie plan, voir http://www.defra.gov.uk/animalh/bse/bse-science/scrapie/nsp/nsp.html, Dutch Scrapie Control Programme, voir (Smits et al. 2000)). En France, l'amélioration génétique des animaux est organisée par une loi sur l'élevage datant de 1966, et fait appel à un ensemble de structures dont les UPRA, Unités de Promotion de Races, rassemblant les éleveurs sélectionneurs, qui jouent un rôle moteur dans l'évolution génétique des races. La Commission Nationale pour l'Amélioration Génétique (CNAG) du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche organise les aides publiques pour ces actions de sélection..

Une enquête a été réalisé au niveau européen (programme communautaire CT973305) sur des échantillons représentatifs d'une cinquantaine de races ovines pour évaluer les fréquences des allèles du gène PRNP. Cet inventaire donne pour chaque race les éléments nécessaires pour une organisation de la sélection sur la résistance à la tremblante. Parmi les races françaises, les fréquences des allèles ARR, ARQ, VRQ et AHQ varient respectivement de 0 à 80 %, 5 à 82 %, 0 à 17 % et 0 à 17 %.

Tableau 6 :Fréquence des allèles PRNP
par race (d'après (Elsen et al. 2002))

Race	ARR	AHQ	ARQ	VRQ
Caussenard du Lot	0,151	0,174	0,604	0,071
Est à laine Mérinos	0,159	0,066	0,774	0
Vendéen	0,163	0	0,822	0,015
Manech tête rousse	0,171	0,003	0,808	0,018
Noir du Velay	0,227	0	0,736	0,036
Blanc du Massif Central	0,25	0,05	0,621	0,079
Texel	0,27	0,05	0,59	0,09
Charmois	0,313	0,03	0,495	0,162
Tarasconnais	0,325	0,01	0,66	0,005
Mérinos d'Arles	0,359	0,025	0,591	0,025
INRA401	0,37	0,06	0,47	0,1
Basco-Béarnaise	0,388	0	0,612	0
Lacaune (lignée OviTest)	0,4	0,03	0,505	0,065
Limousine	0,406	0	0,594	0
Rava	0,43	0,007	0,528	0,035
Grivette	0,441	0	0,544	0,015
Préalpes du Sud	0,441	0	0,559	0
Corse	0,454	0,049	0,495	0,002
Manech tête noire	0,508	0,008	0,482	0,003
Lacaune (lignée Gebro)	0,566	0,01	0,278	0,146
Hampshire	0,602	0,005	0,379	0,015
Lacaune (lait)	0,632	0,016	0,343	0,009
Bizet	0,632	0,019	0,349	0
Rouge de l'ouest	0,667	0	0,25	0,083
Ile de France	0,687	0	0,146	0,167
Bleu du Maine	0,7	0	0,05	0,25
Suffolk	0,704	0	0,281	0,015
Berrichon du Cher	0,805	0,063	0,105	0,026

Quatre objectifs pourraient être considérés :

Eliminer l'allèle VRQ.

L'élimination de l'allèle VRQ devrait être systématique, car l'ensemble des observations sur la tremblante dans le monde montre qu'une fréquence élevée de cet allèle représente un facteur de risque important.

Renouveler les cheptels atteints avec des reproducteurs protégés contre la tremblante.

La constitution d'un cheptel de béliers ARR/ARR dûment identifiés au sein de chaque race pourrait devenir une nécessité si ces béliers ARR/ARR doivent être utilisés de façon exclusive dans les élevages atteints. Dans les cas d'abattage total ou partiel, il serait par ailleurs très

souhaitable de repeupler les élevages avec des brebis au moins hétérozygotes ARR pour éviter les récidives fréquemment observées.

Sélectionner l'allèle ARR dans le noyau de sélection.

L'amélioration progressive de la résistance d'une race aux ESST passe par une augmentation de la fréquence de l'allèle ARR chez les reproducteurs. L'objectif devrait être que 100% des géniteurs mâles et femelles soient ARR/ARR à une échéance pouvant varier selon les races. Il est cependant indispensable de prévoir une augmentation de la résistance aux EST qui respecte les équilibres entre caractères et notamment n'ait pas pour conséquence de diminuer le niveau génétique moyen de la race sur les caractères de production, ni de réduire sa variabilité génétique disponible.

Utiliser des béliers ARR/ARR pour la production d'agneaux de boucherie.

La commercialisation exclusive d'agneaux porteurs de l'allèle ARR pourrait former la base d'une politique sanitaire visant à protéger les consommateurs d'un risque potentiel de transmission d'une EST (notamment l'ESB) qu'ils subiraient en consommant de la viande ovine. Elle est envisagée dans le « Contingency Plan » proposé par le DEFRA du Royaume Uni dans l'éventualité où des cas d'ESB seraient détectés chez des ovins[23] . La mise en œuvre la plus simple est l'utilisation exclusive de béliers ARR/ARR dans les élevages de production. Il faut pour cela les produire et les identifier en quantité importante.

7.2- Limites scientifiques et techniques

Même si la situation pour la tremblante naturelle est maintenant assez claire, quelques incertitudes demeurent sur la pleine résistance et sur l'absence de portage des ovins ARR/ARR à toutes les EST. Il conviendrait donc dans l'organisation de tels plans de sélection de prévoir une surveillance au long terme de la non apparition de cas d'animaux ARR/ARR malades.

La sélection des populations permet en théorie d'améliorer de façon durable le niveau du caractère faisant l'objet de cette sélection. Ce caractère pérenne des résultats ne s'obtient qu'au prix d'une organisation sur le long terme des mesures (le génotypage du gène PrP pour l'amélioration de la résistance à la tremblante), du choix des reproducteurs et dans certains cas de leurs accouplements selon leur valeur génétique pour le caractère d'intérêt. Les principales contraintes techniques de ces opérations sont donc l'obligation d'un travail au long terme et le coût du génotypage des reproducteurs.

Enfin, l'amélioration génétique de la résistance à la tremblante n'aura pas une efficacité immédiate du fait des délais de renouvellement des cheptels. Une forte protection des agneaux de boucherie, qui seraient tous issus de père ARR/ARR, pourrait cependant être obtenue en relativement peu de temps (de l'ordre de 2 à 5 ans selon les races). En résumé, l'outil génétique ne permet pas d'apporter des solutions à effet immédiat sur le court terme, mais permet d'anticiper des solutions à d'éventuelles situations d'urgence.

8- PRODUCTION, IMPORTATION ET CONSOMMATION DE DENREES ISSUES DE PETITS RUMINANTS

Le Comité a réuni les différentes données disponibles permettant de quantifier l'exposition des consommateurs au travers des types de productions et des origines géographiques.

---

[23] Defra (2001). Contingency plan : for the emergence of naturally occurring BSE in sheep in the United Kingdom National flock. 28 septembre 2001, 50p

8.1- Production, importation et consommation de viande de petits ruminants

Ce chapitre décrit la production et l'importation de viande ovine, les données de production de viande caprine n'ayant pas pu être collectées, et les données de consommation de viande ovine et caprine[24].

La **production** ovine en France correspond à **133000** TEC (tonnes-équivalent carcasses) dont 85% en production d'agneaux de bergerie et 15% de brebis. Les abattages en France représentent ces 133000 TEC moins 10000 TEC qui sont exportés sur pied (vif), plus 9000 TEC en importation sur pied (vif) : au total donc 132000 TEC sont abattus en France dont 123000 TEC sont strictement d'origines françaises.

Le nombre de brebis allaitantes (production d'agneaux de bergerie) ne cesse de diminuer (de 6.5 millions en 1989 à 5.2 millions en 2000) alors que le nombre des brebis laitières a plutôt tendance à augmenter (de 1.17 million à 1.3 million au cours de la même période).

La **consommation** totale en France est de **293000** TEC qui sont répartis comme suit :

- 114000 TEC d'origine strictement française dont 100000 TEC de viande d'agneau (le solde de 9000 TEC entre les 123000 TEC abattus et la consommation correspond aux exportations françaises de viande ovine)
- 9000 TEC correspondant aux ovins importés vivants et abattus en France
- 170000 TEC de viandes importées dont 17% de viandes congelées
- 8000 TEC de viande caprine

Les données individuelles de consommation sont les suivantes :

Tableau 7 : Consommation comparée de viande de petits ruminants et de bovins en 1999

	En milliers de TEC		*En Kg/habitant*	
	1990	1999	1990	1999
Ovin-caprin	313	300	5.5	5.0
Boeuf-veau	1685	1622	29.8	26.7

Ainsi, la consommation individuelle de viande de petits ruminants correspond à environ 20% de la viande de bovin consommée. En volume, la consommation moyenne, stable de 1997 à 1999 (dernières données connues du Comité) est de 4.9 kg / habitant.

Les données **d'importation** pour l'année 1999 sont les suivantes

[24] *source : Institut de l'Elevage, données 1999 réactualisées pour 2000*

Tableau 8 : Importation de viandes ovines en 1999 (données : Institut de l'Elevage)

		Viande ovine (en milliers de tonnes)			
Provenance	Ovins sur pied (en milliers de têtes)	Toutes viandes	Dont frais + réfrigéré	Dont congelé	Total équivalent carcasse (en milliers de tonnes)
Royaume-Uni[a]	225	83.7	82.8	0.9	86.6
Irlande	21	44.7	44.4	0.3	45.0
Pays-Bas[a]	357	1.7	1.5	0.2	5.1
Espagne	106	5.0	2.8	2.3	6.5
Belgique-Lux	7	2.7	2.1	0.7	2.8
Total UE	**740**	**138.8**	**133.9**	**4.8**	**147.3**
Nouvelle-Zélande	...	27.5	6.2	21.4	27.5
Australie	...	2.1	0.7	1.4	2.1
Total Autres pays	**10**	**31.2**	**7.2**	**23.7**	**31.0**
TOTAL	**750**	**170.0**	**141.1**	**28.5**	**178.3**

[a] A noter que certains animaux en provenance des Pays-Bas sont en réalité des agneaux d'origine anglaise ayant transité par les Pays-Bas (*source : abattoir de Sisteron*)

En résumé, la France, en 1999, produisait **12**% de l'offre de viande ovine de l'UE, derrière le Royaume-Uni (35%) et l'Espagne (21%). Mais surtout elle dépend fortement des îles britanniques dans ses approvisionnements, puisqu'elle produit environ 48% de ce qu'elle consomme et que au moins la moitié des importations (49%) et au moins 30% de la consommation provient du Royaume-Uni (hors période d'embargo lié à la fièvre aphteuse). Des mesures qui ne concerneraient que les ovins autochtones n'auraient donc qu'un impact limité sur l'exposition des consommateurs.

8.2 Production et consommation de fromages d'origine ovine et caprine

Les données relatives à la consommation moyenne des français ont été fournies par l'Observatoire des Consommations Alimentaires[25] et extraites de l'enquête INCA qui a recueilli toutes les prises alimentaires des individus pendant une semaine entière. Les données de consommation alimentaire ont été obtenues à partir de carnets de consommation, renseignés sur une période de 7 jours consécutifs par les enquêtés. L'enquête a été réalisée auprès de 3000 individus, enfants et adultes représentatifs de la population française. La représentativité nationale de l'échantillon a été assurée par stratification (région d'habitation et taille d'agglomération) et par la méthode des quotas (âge, sexe, PCS individuelle et taille du ménage).

L'échantillon des adultes regroupe donc 1474 individus de plus de 14 ans.

[25] *sources : Note technique OCA/AD/2001-289 et note AFSSA Unité évaluation du risque biologique du 21/11/01*

Tableau 9 : Estimation de la consommation annuelle et individuelle de fromages de chèvre ou de brebis (en grammes /personne/an) (Source : enquête INCA 1999)

	Population	Effectif	Moyenne	Ecart type	P90 (90ème percentile)	Taux d'individus consommateurs
Fromage de chèvre	Adultes	1474	1387	3078	4693	31%
	Enfants	1018	537	1603	2086	18%
Fromage de brebis	Adultes	1474	890	2497	4171	19%
	Enfants	1018	234	1320	0	7%

Ainsi, la consommation annuelle moyenne des adultes (15 ans et plus) en fromage de chèvre est d'environ 1,4 kg par an. Celle des enfants est d'environ 500 g. La consommation moyenne annuelle des adultes en fromage de brebis est de 890 g et celle des enfants de 230 g.

La consommation totale de fromage de chèvre ou de brebis représente un volume total de 2,3 kg/an pour un adulte avec 90ème percentile à 8.8 kg/an sur une consommation totale annuelle de 14,3 kg de fromage/personne adulte (soit environ 16%).

9-AVIS

9.1-Contexte de l'avis

Le dispositif en place actuellement dans les filières petits ruminants repose sur une évaluation perfectible du risque de circulation d'une souche d'ESB chez les petits ruminants. Si les conditions nécessaires à ce passage et à son entretien ultérieur ont certainement été remplies, aucun élément scientifique ne permet par contre ni d'établir et de quantifier la réalité de ce passage, ni d'infirmer son existence. Le Comité souligne qu'une partie de cette méconnaissance, pour ce qui concerne la situation française, est liée à l'absence d'études à large échelle en France, alors même que la mise en réseau des compétences et des installations expérimentales sont disponibles pour conduire ce travail, et que l'importance de ces données pour l'analyse de risque a déjà été soulignée[26]. Néanmoins, il lui paraît nécessaire de faire connaître que l'annonce d'un tel événement serait considérée au plan scientifique comme aisément anticipable, et qui n'apporterait dans ce contexte aucun élément que l'analyse des données épidémiologiques et expérimentales n'aurait permis de prévoir. Dans l'état actuel des estimations disponibles, au sein des cheptels atteints d'ESST, ceux atteints d'ESB devraient néanmoins en représenter au plus une faible fraction (§ 1). Le Comité souligne que cette situation est très différente de celle de l'ESB, pour laquelle la maladie étant présente dans le cheptel bovin et sa transmissibilité à l'homme avérée, le fondement des avis du Comité est de minimiser l'exposition des consommateurs à des aliments dont l'absence d'infectiosité n'est pas démontrée.

Dans l'hypothèse où l'ESB ne serait actuellement pas présente chez les petits ruminants autochtones ou importés, le dispositif actuel, reposant sur le retrait des MRS et la mise en place de mesures spécifiques dans les élevages atteints d'ESST, s'avérerait sans impact pour la santé publique, en tout cas au regard des connaissances actuelles sur la tremblante. Dans l'hypothèse où l'ESB serait présente chez les petits ruminants, le dispositif actuel, reposant sur le retrait des MRS et la mise en place de mesures spécifiques dans les élevages atteints d'ESST, s'il était complété par la non mise à la consommation des intestins de mouton de tout âge[27], retirerait de la chaîne alimentaire la plupart des tissus les plus infectieux ; néanmoins, il

---

[26] Avis du CIM sur les ESST du 2 février 2001

[27] Avis du CIM sur les ESST du 2 février 2001 ; Avis du CES sur les ESST du 1 novembre 2001

ne serait pas de nature à offrir une garantie au consommateur de maîtrise des risques d'exposition avérés ou potentiels en fonction des données scientifiques actuelles, pour les raisons exposées au § 2.

De manière à fournir aux décideurs des éléments utiles à la prise de décision, le Comité a donc souhaité conduire à titre prospectif une analyse des avis qu'il pourrait rendre, dans l'hypothèse où il s'avérerait opportun d'élever rapidement le niveau de protection du consommateur, par exemple en cas de démonstration de la circulation de la souche d'ESB chez les petits ruminants. Le Comité a conclu, et souhaite faire connaître, qu'il ne pourrait, sur les bases scientifiques, techniques et logistiques actuelles, suggérer aucune disposition de nature à réduire à un niveau marginal l'exposition des consommateurs, et qui serait applicable dans des délais suffisamment brefs pour être compatible avec les systèmes de production dans les filières petits ruminants.

Or, jusqu'à une époque récente (automne 2001), les outils disponibles ne permettaient pas de proposer de mesures autres que celles fondées sur le retrait des MRS, dont il a été proposé de moduler la définition en fonction des facteurs d'exposition des animaux[28]. Le Comité souligne qu'il est désormais possible de définir des mesures complémentaires, qui à la fois diminueraient dès maintenant l'exposition des consommateurs à une éventuelle ESB ovine, et permettraient aux filières de petits ruminants d'anticiper et donc de minimiser les conséquences d'un éventuel renforcement ultérieur rapide des mesures actuelles, qui pourrait être dicté par une situation d'urgence.

9.2- Acquisition de données scientifiques et développement d'outils technologiques

Le Comité a tout d'abord identifié des domaines qui relèvent de l'acquisition de données scientifiques ou du développement d'outils technologiques qui sont indispensables à l'analyse scientifique du risque, et conseille leur mise en place dans les délais les plus brefs :

a) estimer la prévalence des ESST chez les petits ruminants dans des conditions d'échantillonnage permettant une description de la situation épidémiologique utile à l'analyse de risque
b) valider les outils de typage des isolats d'ESST chez les petits ruminants et typer un large panel d'isolats dans des conditions permettant l'analyse du risque d'occurrence de la souche d'ESB chez les petits ruminants
c) valider des tests rapides pour utilisation à partir de tissus périphériques

9.3- avantages et inconvénients de différentes options

Le Comité a par ailleurs analysé différentes options de lutte, correspondant à trois niveaux croissants de sécurité dans la maîtrise du risque hypothétique pour le consommateur et pour la santé animale lié au passage éventuel de l'ESB chez les petits ruminants dans les conditions naturelles. Les avantages et inconvénients de chaque niveau ont été évalués sur les deux critères de santé publique ou animale, à l'exclusion de critères de coût, d'impact socio-économique ou de conformité à la réglementation communautaire actuelle.

Si le premier niveau correspond à la situation actuelle, les autres envisagent une démarche active d'anticipation de la maîtrise de ce risque à ce jour hypothétique ; leur mise en place permettrait par ailleurs de limiter les conséquences défavorables pour les filières concernées d'une éventuelle démonstration ultérieure de l'existence de l'ESB chez les petits ruminants. Par ailleurs, quel que soit le niveau retenu , les données de consommation rappelées au § 8.1 et 8.2 impliquent d'appliquer les mêmes règles pour les produits importés.

---

[28] *Avis du CIM sur les ESST du 2 février 2001 ; Avis du CES sur les ESST du 1 novembre 2001*

niveau 1 : ne pas modifier le dispositif actuel

Au titre des points favorables, le dispositif actuel exclut de la consommation humaine la plupart des tissus les plus infectieux chez les petits ruminants (et devrait, dans cette logique, inclure les intestins de petits ruminants quel que soit leur âge[29]).

Au titre des inconvénients, les dispositions actuelles :

- dans l'hypothèse de la présence de l'ESB chez les petits ruminants autochtones ou importés, laissent subsister un risque d'exposition du consommateur lié :
    i. à ce que le retrait des MRS laisse subsister des tissus à infectiosité démontrée ou potentielle
    ii. à ce que les effectifs atteints d'ESST sont identifiés sur une base symptomatologique déclarative, conduisant à une sous-notification vraisemblablement importante, alors que la définition des MRS a été élargie à tous les viscères thoraciques et abdominaux dans les effectifs connus comme atteints par une ESST
- ne permettent pas d'identifier les troupeaux à risque marginal d'être atteints par une ESST et donc, en cas d'opportunité d'augmenter rapidement le niveau de protection du consommateur,
    i. font reposer des mesures additionnelles sur des données individuelles pour chaque carcasse (test et/ou connaissance de la génétique de l'animal ou de ses ascendants) éventuellement scientifiquement perfectibles, en dehors de toute considération de coût ou de possibilité logistique de mise en place
    ii. si la mise en place de ces mesures additionnelles devait se révéler impossible, ou lente, ou si, en fonction de la validation des tests, ceux ci devaient se trouver perfectibles, les avis scientifiques pourraient concerner l'intégralité des troupeaux,
    iii. ne permettent pas de donner de garanties d'exposition minimale des consommateurs pour les produits laitiers

niveau 2 : diminuer progressivement l'exposition des consommateurs aux ESST des petits ruminants et anticiper un éventuel renforcement ultérieur du niveau de protection du consommateur

Les mesures qui pourraient être retenues sont les suivantes :

d) mettre en place un système national de gestion de l'identification des petits ruminants, incluant la date de naissance, et de contrôle des effectifs, maîtrisant les échappements,

e) mettre en place un dépistage systématique des ESST basé sur l'utilisation de tests rapides sur les cadavres et chez les animaux de réforme, ayant pour premier objectif l'identification de cheptels atteints auxquels devraient s'appliquer les mesures de police sanitaire, abaissant ainsi les risques de sous-déclarations inhérentes au dispositif actuel,

f) définir et appliquer des conditions de qualification de cheptels à risque résiduel marginal d'être infecté par une ESST, et favoriser les introductions d'animaux à partir de cheptels qualifiés,

g) favoriser l'application de plans d'amélioration génétique visant à augmenter la résistance des cheptels ovins aux ESST.

Les avantages de cette approche sont :

- l'application des mesures de police sanitaire à un nombre accru de troupeaux atteints d'ESST identifiés diminuerait progressivement l'exposition globale des consommateurs aux risques liés aux denrées autochtones (à l'exclusion des produits importés)

---

[29] *Avis du CIM sur les ESST du 2 février 2001*

- la combinaison d'un système d'identification fiable, d'une connaissance de cheptels qualifiés à risque résiduel marginal d'être infecté par une ESST, d'outils de dépistage de l'infectiosité à partir de tissus périphériques, permettrait de mettre en place très rapidement, en cas d'opportunité, un dispositif adapté à une protection accrue du consommateur,
- sous certaines conditions, la liste des MRS pourrait être réduite chez les animaux issus de ces troupeaux qualifiés
- ces mesures auraient un impact direct en matière de protection de la santé animale,

Les inconvénients de cette approche sont

- une durée de quelques années avant que des troupeaux à risque résiduel marginal d'être infecté par une ESST, soient identifiés avec une fiabilité satisfaisante,
- une durée de plusieurs années avant que les programmes d'amélioration génétique aient un impact majeur,
- l'absence de garantie individuelle de salubrité des produits, même si, comme précisé antérieurement, l'exposition globale des consommateurs devrait diminuer progressivement.

niveau 3 : diminuer rapidement le niveau d'exposition du consommateur aux agents des ESST des petits ruminants

Les mesures qui peuvent être proposées sont les suivantes, et doivent être comprises comme complémentaires des précédentes :

h) Utiliser les tests rapides dès leur validation (point c.) pour tester les tissus périphériques des carcasses consommées, et conditionner leur consommation à l'obtention d'un résultat négatif, puis passer progressivement d'une logique de tests individuels d'animaux à la qualification des troupeaux d'origine pour les animaux consommés (point f.)

i) Organiser la collecte de laits, dès maintenant à partir de cheptels où une ESST n'a pas été identifiée, puis, à terme à partir de cheptels qualifiés indemnes

j) Adopter des mesures équivalentes pour les produits importés

Par rapport à l'option 2, les avantages supplémentaires sont les suivants

- une diminution importante dès leur initiation et à mesure de leur application, du niveau d'exposition aux ESST des petits ruminants du consommateur
- la capacité, sous réserve de l'examen des modalités détaillées d'application, de fournir une garantie individuelle de salubrité des produits, conforme aux connaissances scientifiques actuelles

Le Comité souligne qu'il est prêt à examiner sur saisines spécifiques toute demande de contribution à une définition plus précise des mesures ci-dessus. Par ailleurs, il fera part dans les délais les plus brefs, en cas d'opportunité, des modifications d'analyse du risque d'occurrence de l'ESB chez les petits ruminants qui pourraient découler d'informations complémentaires ultérieures et qui pourraient être utiles aux pouvoirs publics.

9.4 Critères de choix et conséquences pour l'analyse scientifique

Le Comité rappelle que les mesures actuellement en place relèvent exclusivement d'un principe de précaution, et que toute mesure additionnelle serait à inscrire dans le cadre d'une précaution accrue. Il considère que le choix parmi les trois niveaux décrits, ou une combinaison d'entre eux, nécessite de prendre en compte, pour ce qui relève de l'analyse scientifique ultérieure de l'adéquation des mesures retenues, les trois critères suivants :

i) le niveau de risque qu'il est possible de retenir sur l'exposition globale des consommateurs,

ii) le niveau de garantie individuelle de salubrité des produits qu'il est souhaitable de privilégier,

iii) le niveau d'anticipation de mesures visant à préserver les filières animales en cas de situation d'urgence ultérieure, pour une même garantie de santé publique.

Le Comité considère que, tant que durera le contexte d'incertitude sur l'existence même et l'éventuelle fréquence de la souche d'ESB chez les petits ruminants, ces critères ne peuvent être définis, même implicitement, par une instance scientifique. Il lui est possible néanmoins de contribuer à éclairer la décision publique en soulignant que, pour ce qui relève des impacts possibles en matière de santé publique, le niveau 2 correspondrait essentiellement à la satisfaction des critères i) et iii), alors que l'ajout du niveau 3 le complèterait par la satisfaction du critère ii.

A contrario, et tant que l'existence d'une souche d'ESB chez les petits ruminants restera hypothétique, le Comité conditionnera dans le futur ses avis relatifs aux mesures de gestion sanitaire qui lui seront proposées par l'Etat chez les petits ruminants, à une précision par l'AFSSA et/ou les ministères de tutelle des critères ci-dessus mentionnés vis-à-vis desquels l'analyse scientifique devrait être conduite.

Fait à Maisons-Alfort le 31 décembre 2001

Le Président du Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST

Pr. Marc ELOIT

Références

1. ANDREOLETTI,O., BERTHON,P., MARC,D., SARRADIN,P., GROSCLAUDE,J., VAN KEULEN,L., SCHELCHER,F., ELSEN,J.M. & LANTIER,F. (2000) Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J.Gen.Virol.*, **81,** pp. 3115-3126.

2. AUCOUTURIER,P., GEISSMANN,F., DAMOTTE,D., SABORIO,G.P., MEEKER,H.C., KASCSAK,R., KASCSAK,R., CARP,R.I. & WISNIEWSKI,T. (2001) Infected splenic dendritic cells are sufficient for prion transmission to the CNS in mouse scrapie. *J.Clin.Invest*, **108,** pp. 703-708.

3. BROTHERSTON,J.G., RENWICK,C.C., STAMP,J.T., ZLOTNIK,I. & PATTISON,I.H. (1968) Spread and scrapie by contact to goats and sheep. *J.Comp Pathol.*, **78,** pp. 9-17.

4. BROWN,P. & GAJDUSEK,D.C. (1991) Survival of scrapie virus after 3 years' interment. *Lancet*, **337,** pp. 269-270.

5. BRUCE,M. (1996) Strain typing studies of scrapie and BSE. In: *Prion diseases* Humana Press, , Totowa NJ.

6. CALAVAS,D., DUCROT,C., BARON,T., MORIGNAT,E. , VINARD,J.L., BIACABE,A.G., MADEC,J.Y., BENCSIK,A., DEBEER,S. & ELIAZSEWICZ,M. (2001) Prevalence of BSE in western France by screening cattle at risk: preliminary results of a pilot study. *Vet.Rec.*, **149,** pp. 55-56.

7. CARAMELLI,M., RU,G., CASALONE,C., BOZZETTA,E., ACUTIS,P.L., CALELLA,A. & FORLONI,G. (2001) Evidence for the transmission of scrapie to sheep and goats from a vaccine against Mycoplasma agalactiae. *Vet.Rec.*, **148,** pp. 531-536.

8. CROZET,C., BENCSIK,A., FLAMANT,F., LEZMI,S., SAMARUT,J. & BARON,T. (2001a) Florid plaques in ovine PrP transgenic mice infected with an experimental ovine BSE. *EMBO Rep.*, **2,** pp. 952-956.

9. CROZET,C., FLAMANT,F., BENCSIK,A., AUBERT,D. , SAMARUT,J. & BARON,T. (2001b) Efficient transmission of two different sheep scrapie isolates in transgenic mice expressing the ovine PrP gene. *J.Virol.*, **75,** pp. 5328-5334.

10. DAWSON,M., HOINVILLE,L.J., HOSIE,B.D. & HUNTER,N. (1998) Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical scrapie. Scrapie Information Group. *Vet.Rec.*, **142,** pp. 623-625.

11. DESLYS,J.P., COMOY,E., HAWKINS,S., SIMON,S., SCHIMMEL,H., WELLS,G., GRASSI,J. & MOYNAGH,J. (2001) Screening slaughtered cattle for BSE. *Nature*, **409,** pp. 476-478.

12. DICKINSON,A.G. (1974) Letter: Scrapie. *Nature*, **252,** pp. 179-180.

13. DICKINSON,A.G. (1976) Scrapie in sheep and goats. *Front Biol.*, **44,** pp. 209-241.

14. DICKINSON,A.G., YOUNG,G.B., STAMP,J.T. & RENWICK,C.C. (1965) An analysis of natural scrapie in Suffolk sheep. *Heredity*, **20,** pp. 485-503.

15. DUCROT,C. & CALAVAS,D. (1998) Hypothèses sur la transmission de la tremblante à partir de l'analyse épidémiologique de 15 élevages atteints de tremblante. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **149,** pp. 831-840.

16. ELSEN,J.M., AMIGUES,Y., SCHELCHER,F., DUCROCQ,V., ANDREOLETTI,O., EYCHENNE,F., KHANG,J.V., POIVEY,J.P., LANTIER,F. & LAPLANCHE,J.L. (1999) Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Arch.Virol.*, **144,** pp. 431-445.

17. ELSEN, J. M., BARILLET, F., FRANÇOIS, D, BOUIX, J, BIBE, B, AND PALHIERE, I. 2002Génétique de la sensibilité à la tremblante. Bulletin GTV .

18. FOOTE,W.C., CLARK,W., MACIULIS,A., CALL,J.W., HOURRIGAN,J., EVANS,R.C., MARSHALL,M.R. & DE CAMP,M. (1993) Prevention of scrapie transmission in sheep, using embryo transfer. *Am.J.Vet.Res.*, **54,** pp. 1863-1868.

19. FOSTER,J., MCKELVEY,W., FRASER,H., CHONG,A., ROSS,A., PARNHAM,D., GOLDMANN,W. & HUNTER,N. (1999) Experimentally induced bovine spongiform encephalopathy did not transmit via goat embryos. *J.Gen.Virol.*, **80 (Pt 2),** pp. 517-524.

20. FOSTER,J.D., BRUCE,M., MCCONNELL,I., CHREE,A. & FRASER,H. (1996a) Detection of BSE infectivity in brain and spleen of experimentally infected sheep. *Vet.Rec.*, **138,** pp. 546-548.

21. FOSTER,J.D., HUNTER,N., WILLIAMS,A., MYLNE,M.J., MCKELVEY,W.A., HOPE,J., FRASER,H. & BOSTOCK,C. (1996b) Observations on the transmission of scrapie in experiments using embryo transfer. *Vet.Rec.*, **138,** pp. 559-562.

22. FOSTER,J.D., MCKELVEY,W.A., MYLNE,M.J., WILLIAMS,A., HUNTER,N., HOPE,J. & FRASER,H. (1992) Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet.Rec.*, **130,** pp. 341-343.

23. FOSTER,J.D., PARNHAM,D., CHONG,A., GOLDMANN,W. & HUNTER,N. (2001a) Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats. *Vet.Rec.*, **148,** pp. 165-171.

24. FOSTER,J.D., PARNHAM,D.W., HUNTER,N. & BRUCE,M. (2001b) Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with BSE following experimental oral transmission. *J.Gen.Virol.*, **82,** pp. 2319-2326.

25. GOLDMANN,W., HUNTER,N., SMITH,G., FOSTER,J. & HOPE,J. (1994) PrP genotype and agent effects in scrapie: change in allelic interaction with different isolates of agent in sheep, a natural host of scrapie. *J.Gen.Virol.*, **75 (Pt 5),** pp. 989-995.

26. GRASSI, J., COMOY, E., SIMON, S., CREMINON, C., FROBERT, Y., TRAPMANN, S. , SCHIMMEL, H., HAWKINS, S., MOYNAGH, J., DESLYS, J. P., AND WELLS, G. A. 2001Rapid test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. Vet.Rec. 149[19], 577-582.

27. GREIG,J.R. (1950) Scrapie in Sheep. *Journal of Comparative Pathology*, **60,** pp. 263-266.

28. HADLOW,W.J., KENNEDY,R.C. & RACE,R.E. (1982) Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *J.Infect.Dis.*, **146,** pp. 657-664.

29. HADLOW,W.J., KENNEDY,R.C., RACE,R.E. & EKLUND,C.M. (1980a) Virologic and neurohistologic findings in dairy goats affected with natural scrapie. *Vet.Pathol.* , **17,** pp. 187-199.

30. HADLOW,W.J., KENNEDY,R.C., RACE,R.E. & EKLUND,C.M. (1980b) Virologic and Neurohistologic Findings in Dairy Goats Affected with Natural Scrapie. *Veterinary Pathology*, **17,** pp. 187-199.

31. HOINVILLE,L.J. (1996) A review of the epidemiology of scrapie in sheep. *Rev.Sci.Tech.*, **15,** pp. 827-852.

32. HOINVILLE,L.J., HOEK,A., GRAVENOR,M.B. & MCLEAN,A.R. (2000) Descriptive epidemiology of scrapie in Great Britain: results of a postal survey. *Vet.Rec.*, **146,** pp. 455-461.

33. HOPE,J., WOOD,S.C., BIRKETT,C.R., CHONG,A., BRUCE,M.E., CAIRNS,D., GOLDMANN,W., HUNTER,N. & BOSTOCK,C.J. (1999) Molecular analysis of ovine prion protein identifies similarities between BSE and an experimental isolate of natural scrapie, CH1641. *J.Gen.Virol.*, **80 (Pt 1),** pp. 1-4.

34. HOPP,P., ULVUND,M.J. & JARP,J. (2001) A case-control study on scrapie in Norwegian sheep flocks. *Prev.Vet.Med.*, **51,** pp. 183-198.

35. HOURRIGAN,J.L. (1990) Experimentally induced bovine spongiform encephalopathy in cattle in Mission, Tex, and the control of scrapie. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, **196,** pp. 1678-1679.

36. HOURRIGAN,J.L., KLINGSPORN,A., CLARK,W.W. & DE CAMP,M. (1979) Epidemiology of scrapie in the United States. In: *Transmissible Diseases of the Nervous System* (Ed. by S.B.Prusiner & W.J.Hadlow), pp. 331-356. Academic Press, New York.

37. HUANG, F. P., FARQUHAR, C. F., MABBOTT, N. A., BRUCE, M. E., AND MACPHERSON, G. G. 2001Migrating intestinal dendritic cells transport PrPSc from the gut. J.Gen.Virol.

38. HUNTER,N. (2000) Transmissible Spongiform encephalopathies. In: *Breeding for Disease resistance in Farm animals* pp. 325-339. RFE Axford CABI Publishing, New York.

39. HUNTER,N., FOSTER,J.D., DICKINSON,A.G. & HOPE,J. (1989) Linkage of the gene for the scrapie-associated fibril protein (PrP) to the Sip gene in Cheviot sheep. *Vet.Rec.*, **124,** pp. 364-366.

40. IKEDA,T., HORIUCHI,M., ISHIGURO,N., MURAMATSU,Y., KAI-UWE,G.D. & SHINAGAWA,M. (1995) Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *J.Gen.Virol.*, **76 (Pt 10),** pp. 2577-2581.

41. JEFFREY,M., RYDER,S., MARTIN,S., HAWKINS,S.A., TERRY,L., BERTHELIN-BAKER,C. & BELLWORTHY,S.J. (2001) Oral inoculation of sheep with the agent of bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Onset and distribution of disease-specific PrP accumulation in brain and viscera. *J.Comp Pathol.*, **124,** pp. 280-289.

42. KAO, R. R., GRAVENOR, M. B., BAYLIS, M., BOSTOCK, C. J., CHIHOTA, C. M., EVANS, J. C., GOLDMANN, W., SMITH, A., AND MCLEAN, A. R. 2001The potential size and duration of an epidemic of bovine spongiform encephalopathy in british sheep. *Science* , in press

43. KIMBERLIN,R.H. & WALKER,C.A. (1978) Pathogenesis of mouse scrapie: effect of route of inoculation on infectivity titres and dose-response curves. *J.Comp Pathol.*, **88,** pp. 39-47.

44. LASMEZAS,C.I., FOURNIER,J.G., NOUVEL,V., BOE,H., MARCE,D., LAMOURY,F., KOPP,N., HAUW,J.J., IRONSIDE,J., BRUCE,M., DORMONT,D. & DESLYS,J.P. (2001) Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-- Jakob disease: implications for human health. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, **98,** pp. 4142-4147.

45. MABBOTT,N.A. & BRUCE,M.E. (2001) The immunobiology of TSE diseases. *J.Gen.Virol.*, **82,** pp. 2307-2318.

46. MAIGNIEN,T., LASMEZAS,C.I., BERINGUE,V., DORMONT,D. & DESLYS,J.P. (1999) Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *J.Gen.Virol.*, **80 (Pt 11),** pp. 3035-3042

45. MANUELIDIS,L., ZAITSEV,I., KONI,P., LU,Z.Y., FLAVELL,R.A. & FRITCH,W. (2000) Follicular dendritic cells and dissemination of Creutzfeldt-Jakob disease. *J.Virol.*, **74,** pp. 8614-8622.

46. MONTRASIO,F., COZZIO,A., FLECHSIG,E., ROSSI,D., KLEIN,M.A., RULICKE,T., RAEBER,A.J., VOSSHENRICH,C.A., PROFT,J., AGUZZI,A. & WEISSMANN,C. (2001) B lymphocyte-restricted expression of prion protein does not enable prion replication in prion protein knockout mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, **98,** pp. 4034-4037.

47. MOYNAGH,J. & SCHIMMEL,H. (1999) Tests for BSE evaluated. Bovine spongiform encephalopathy. *Nature*, **400,** pp. 105.

48. OESCH,B., DOHERR,M., HEIM,D., FISCHER,K., EGLI,S., BOLLIGER,S., BIFFIGER,K., SCHALLER,O., VANDEVELDE,M. & MOSER,M. (2000) Application of Prionics Western blotting procedure to screen for BSE in cattle regularly slaughtered at Swiss abattoirs. *Arch.Virol.Suppl*, pp. 189-195.

49. PARRY,H.B. (1983) *Pathology of Natural Scrapie*, Academic Press edn. Ed: By, London.

50. PATTISON,I.H. (1964) The spread of scrapie by contact between affected and healthy sheep, goats or mice. *The Veterinary Record*, **76,** pp. 333-336.

51. PATTISON,I.H. & MILLSON,G.C. (1961) Experimental transmission of scrapie to goats and sheep by the oral route. *Journal of Comparative Pathology*, **71,** pp. 171-176.

52. PATTISON,I.H. & MILLSON,G.C. (1962) Distribution of the scrapie agent in the tissue of experimentally inoculated goats. *Journal of Comparative Pathology*, **72,** pp. 233-244.

53. POST,K., RIESNER,D., WALLDORF,V. & MEHLHORN,H. (1999) Fly larvae and pupae as vectors for scrapie . *Lancet*, **354,** pp. 1969-1970.

54. RACE,R., JENNY,A. & SUTTON,D. (1998) Scrapie infectivity and proteinase K-resistant prion protein in sheep placenta, brain, spleen, and lymph node: implications for transmission and antemortem diagnosis. *J.Infect.Dis.*, **178,** pp. 949-953.

55. SABORIO,G.P., PERMANNE,B. & SOTO,C. (2001) Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature*, **411 ,** pp. 810-813.

56. SCHALLER,O., FATZER,R., STACK,M., CLARK,J., COOLEY,W., BIFFIGER,K., EGLI,S., DOHERR,M., VANDEVELDE,M., HEIM,D., OESCH,B. & MOSER,M. (1999) Validation of a western immunoblotting procedure for bovine PrP(Sc) detection and its use as a rapid surveillance method for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Acta Neuropathol.(Berl)*, **98,** pp. 437-443.

57. SCHMERR,M.J., JENNY,A.L., BULGIN,M.S., MILLER,J.M., HAMIR,A.N., CUTLIP,R.C. & GOODWIN,K.R. (1999) Use of capillary electrophoresis and fluorescent labeled peptides to detect the abnormal prion protein in the blood of animals that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy. *J.Chromatogr.A*, **853,** pp. 207-214.

58. SCHREUDER,B.E., DE JONG,M.C., PEKELDER,J.J., VELLEMA,P., BROKER,A.J. & BETCKE,H. (1993) Prevalence and incidence of scrapie in The Netherlands: a questionnaire survey. *Vet.Rec.*, **133,** pp. 211-214.

59. SHAKED,G.M., SHAKED,Y., KARIV-INBAL,Z., HALIMI,M., AVRAHAM,I. & GABIZON,R. (2001) A protease-resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases. *J.Biol.Chem.*, **276,** pp. 31479-31482.

60. SHLOMCHIK,M.J., RADEBOLD,K., DUCLOS,N. & MANUELIDIS,L. (2001) Neuroinvasion by a Creutzfeldt-Jakob disease agent in the absence of B cells and follicular dendritic cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, **98,** pp. 9289-9294.

61. SIGURDARSON, S. AND DUCROT, C. 1998 Icelandic Scrapie eradication program. European Scrapie Network.

62. SMITS, M. A., BARILLET, F., HARDERS, F. L., BOSCHER, M. Y., VELLEMA, P., AGUERRE, X, HELLINGA, M, MCLEAN, A. R., BAYLIS, M., AND ELSEN, J. M. 2000Genetics of scrapie susceptibility and selection for resistance. 51th meeting of the EAAP August 21-24 2000 , The Hague, The Netherlands, Session S IV.

63. TAMAI,Y., KOJIMA,H., KITAJIMA,R., TAGUCHI,F., OHTANI,Y., KAWAGUCHI,T., MIURA,S., SATO,M. & ISHIHARA,Y. (1992) Demonstration of the transmissible agent in tissue from a pregnant woman with Creutzfeldt-Jakob disease. *N.Engl.J.Med.*, **327,** pp. 649.

64. TUO,W.B., ZHUANG,D.Y., KNOWLES,D.P., CHEEVERS,W.P., SY,M.S. & OROURKE,K.I. (2001) PrP-C and PrP-Sc at the Fetal-Maternal Interface. *The Journal of Biological Chemistry*, **276,** pp. 18229-18234.

65. VILOTTE,J.L., SOULIER,S., ESSALMANI,R., STINNAKRE,M.G., VAIMAN,D., LEPOURRY,L., DA SILVA,J.C., BESNARD,N. , DAWSON,M., BUSCHMANN,A., GROSCHUP,M., PETIT,S., MADELAINE,M.F., RAKATOBE,S., LE DUR,A., VILETTE,D. & LAUDE,H. (2001) Markedly increased susceptibility to natural sheep scrapie of transgenic mice expressing ovine prp. *J.Virol.*, **75,** pp. 5977-5984.

66. WANG,S., FOOTE,W.C., SUTTON,D.L., MACIULIS,A., MILLER,J.M., EVANS,R.C., HOLYOAK,G.R., CALL,J.W., BUNCH,T.D., TAYLOR,W.D. & MARSHALL,M.R. (2001) Preventing experimental vertical transmission of scrapie by embryo transfer. *Theriogenology*, **56,** pp. 315-327.

67. WISNIEWSKI,H.M., SIGURDARSON,S., RUBENSTEIN,R., KASCSAK,R.J. & CARP,R.I. (1996) Mites as vectors for scrapie. *Lancet*, **347,** pp. 1114.